

Automatisierung der quantitativen Dünnschicht-Chromatographie

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde
des

Fachbereichs Pharmazie und Lebensmittelchemie
der Philipps-Universität Marburg/Lahn

vorgelegt von

JÜRGEN HOCKE

aus Eschwege

Marburg 1976

Druck: Mauersberger, Marburg

Automatisierung der quantitativen Dünnschicht-Chromatographie

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

des

Fachbereichs Pharmazie und Lebensmittelchemie
der Philipps-Universität Marburg/Lahn

vorgelegt von

JÜRGEN HOCKE

aus Eschwege

Marburg 1976

Druck: Mauersberger, Marburg



Vom Fachbereich Pharmazie und Lebensmittelchemie
der Philipps-Universität Marburg/Lahn

als Dissertation angenommen am: 15. 12. 1976

Tag der mündlichen Prüfung: 15. 12. 1976

Berichterstatter: Prof. Dr. S. Ebel

Mitberichterstatter: Prof. Dr. H. Klamberg

Mitberichterstatter: Dr. K. Meinzer

Die vorliegende Arbeit entstand an dem von
Herrn Professor Dr. Dr. h. c. Horst Böhme
und Herrn Professor Dr. Klaus Hartke geleit-
eten Institut für Pharmazeutische Chemie
und Lebensmittelchemie der Philipps-Univer-
sität Marburg/Lahn auf Anregung und unter An-
leitung von

Herrn Professor Dr. Siegfried Ebel

Für alle Hilfe und jegliche Unterstützung
möchte ich mich an dieser Stelle sehr herz-
lich bedanken.

Erklärung der Abkürzungen und Symbole

A, Anal.	Analysenbahn
A/D-Wandler	Analog/Digital-Wandler
ASCII	American Standard Code for Information Interchange
b	Peakbreite bei halber Höhe
BASIC	"beginners all purpose symbolic instruction code" (Programmiersprache)
BCD	binär codierte Dezimalzahl (engl.: binary coded decimal code)
bit	Ja/Nein-Entscheidung (engl.: binary digit)
c	Konzentration im DC-Fleck (Substanzmenge/Fleck)
CR	(engl.: carriage return) Wagenrücklauf bei Schreibmaschine
dB	Dezibel; logarithmisches Maß (hier für Dämpfung)
E, Eich.	Eichbahn
ξ	Extinktionskoeffizient
enable	(engl.: befähigen) Freigabe
F	Fläche der Remissionsgrad-Ortskurve
f'	multiplikativer Faktor bei der Auswertung über den internen Standard
h	Peakhöhe
I	Lichtintensität in Einstrahlungsrichtung
IC	integrierter Schaltkreis (engl.: integrated circuit)
I/O	input/output; Ein-Ausgabe-Interface
J	Lichtintensität gegen die Einstrahlungsrichtung
K	Absorptionskoeffizient
LF	(engl.: line feed) Zeilenvorschub bei Schreibmaschine
LS	Lochstreifen
Mikroswitch	Miniatur-Endabschalter (Zeiss PM Q II)

Minitron	aus sieben Segmenten gebildete Ziffernanzeige
MMV	monostabiler Multivibrator
NAND	verneinte logische UND-Verknüpfung
NOR	verneinte logische ODER-Verknüpfung
Q_{Index}	Impuls-Ausgangsleitung
QZB	Quarz-Zeitbasis
R	absolute Remission
R/C-Glied	Kombination aus Widerstand (R) und Kondensator (C)
S	Streukoeffizient
S/H-Amplifier	(engl.: sample/hold-) analoges Speicherelement
Schmitt-Trigger	Schwellenwert-Schalter mit Hysterese
σ	Standardabweichung
$\sigma_{\text{rel}}\%$	relative Standardabweichung
τ	Zeitkonstante $R \times C$
TTL	Transistor-Transistor-Logik (Kennzeichnung einer Logikfamilie)
zig-zag-Scan	zick-zack-förmige Abtastung von DC-Flecken

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. <u>Einführung und Problemstellung</u>	1
2. <u>Industrielle Geräteentwicklung zur Auswertung von Dünnschichtchromatogrammen</u>	3
2.1. Einstrahlgeräte	4
2.2. Zweistrahlergeräte	4
2.3. Zweiwellenlängengeräte	4
2.3.1. Linearscan	5
2.3.2. zig-zag-Scan	5
3. <u>Konventioneller Betrieb und Datenerfassung</u>	6
4. <u>Automatisierter Betrieb</u>	7
4.1. Voraussetzungen zur Automatisierung des Zeiss PM Q II	7
4.1.1. Zeitanaloge Scansteuerung	10
4.1.2. Anforderungen an das Steuersystem	10
4.1.3. Realisierung	12
4.1.4. Beschreibung der Elektronik	14
4.1.5. Gerätekombination	20
4.1.6. Auswertung	22
4.1.7. Durchführung und Ergebnisse	23
4.1.7.1. Punktförmige Auftragung	24
4.1.7.2. Dreipunktauftragung	25
4.1.8. Experimentelle Angaben	26
4.2. Automatisierung des Schoeffel SD 3000	28
4.2.1. Volldigitale Scansteuerung	28

4.2.2.	Anforderungen an das Steuersystem	29
4.2.3.	Schaltungsentwicklung	31
4.2.4.	Beschreibung der Elektronik	34
4.2.5.	Ergebnisse	41
4.2.6.	Experimentelle Angaben	43
4.3.	Fehlerfortpflanzung	44
4.3.1.	Fehlermöglichkeiten bei der elektronischen Integration	45
4.3.1.1.	Fehler durch Basislinienversatz	45
4.3.1.2.	Fehler durch Zeitkonstanten	46
5.	<u>Vollautomatische rechnergesteuerte quanti- tative Auswertung von Dünnschichtchromato- grammen</u>	48
5.1.	Datenerfassung und Rechnerrücksteuerung	48
5.1.1.	Anforderungen an ein vollständig rechner- gesteuertes DC-System	48
5.1.2.	Elektronischer Teil	51
5.1.3.	Flecksuche und Abtastung	55
5.2.	Rechenprogramm	58
5.2.1.	Flußdiagramm zur Densitometersteuerung (SD 3000) mit Tischrechner (z.B. HP 9810)	58
5.2.2.	Auswertung der Daten	70
5.3.	Ergebnisse	72
5.3.1.	Rechnergesteuerte Abtastung von "Normal"- DC-Platten	72
5.3.1.1.	Bestimmung von Fenistil [®] in Vibrocil [®] - Nasentropfen	72
5.3.1.1.1.	Durchführung und Ergebnisse	72
5.3.1.1.2.	Experimentelle Angaben	74
5.3.1.2.	Quantitative Bestimmung der Inhaltsstoffe von EM1 [®] -Dragees und -Saft	76
5.3.1.2.1.	Analysenergebnisse	76

5.3.1.2.2.	Experimentelle Angaben	76
5.3.2.	Rechnergesteuerte Abtastung von HPTLC-Platten	80
5.3.2.1.	Vollautomatisches Vermessen eines Mehrkomponenten-Farbstoffgemisches	81
5.3.2.1.1.	Durchführung und Ergebnisse	81
6.	<u>Datenübertragung von CS900 (Shimadzu DC-Fotometer) auf Tischrechner insbesondere für Messungen im ng-Bereich</u>	83
6.1.	Erfassung von Flecken im ng-Bereich	83
6.1.1.	Über die Nachweisgrenze bei der in situ-Auswertung von Dünnschichtchromatogrammen	85
6.1.2.	Datenerfassung im Linearscan	93
6.2.	Datenerfassung im zig-zag-Scan	95
6.2.1.	Datenübergabesystem	96
6.2.2.	Erkennung der Einzelmaxima	98
6.3.	Beschreibung der Elektronik	98
6.3.1.	Signalaufbereitung	98
6.3.2.	Blockschaltbild	99
6.3.3.	Schaltungsbeschreibung	101
6.4.	Auswertungsmöglichkeiten der gewonnenen Daten	104
6.5.	Auswertung über die Kubelka-Munk-Funktion	104
6.5.1.	Kubelka-Munk-Funktion	106
6.5.2.	Meßsignal eines Zweiwellenlängendensitometers	112
6.5.3.	Auswertung über die Kubelka-Munk-Peakhöhe	115
6.5.4.	Experimentelles	118
7.	<u>Schlußbetrachtung</u>	119
	<u>Literaturverzeichnis</u>	121
	<u>Lebenslauf</u>	123

1. Einführung und Problemstellung

Während die Anwendung der Dünnschichtchromatographie zur Identifizierung von Arzneisubstanzen, Naturstoffen oder Metaboliten von Arzneisubstanzen schon längere Zeit zu den Routinemethoden fast aller Laboratorien gehört, setzt sich die quantitative Bestimmung von dünn-schichtchromatographisch getrennten Substanzen unmittelbar auf der DC-Platte erst in jüngster Zeit wirklich als Routinemethode durch. Gegenüber den meisten analytischen Verfahren haben die chromatographischen Methoden den großen Vorteil, daß Abtrennung oder Separierung der zu bestimmenden Komponente aus der Matrix der Begleitstoffe und quantitative Bestimmung praktisch mit derselben Methode erfolgen. Hinzu kommt als weiterer Vorteil der Einsatz im Mikro- und Submikrobereich. Während die Gaschromatographie heute zu den genauesten Methoden der analytischen Chemie gerechnet werden kann und in optimalen Fällen Fehler von weniger als 0,1% erreichbar sind, ergeben sich in der quantitativen Dünnschichtchromatographie - vor allem durch die Unzulänglichkeiten der Sorbensschicht - größere Fehler. Der Vorteil liegt jedoch auf der Anwendungsseite: Arzneistoffe und in noch größerem Maße Naturstoffe sind oftmals thermolabil und meist auch schwer flüchtig, d. h., gaschromatographisch nicht oder erst nach entsprechender Derivatisierung bestimmbar. Ein ganz wesentlicher Vorteil der Dünnschichtchromatographie ist die nur einmalige Verwendung der stationären Phase: Viele störende Begleitstoffe bleiben am Startpunkt und stören den chromatographischen Trennprozeß nicht, während bei den anderen chromatographischen Methoden diese Substanzen Anlaß zu Störungen bei den folgenden Analysen geben können (lang-sames Ausbluten durch Zersetzen, Desaktivierung der stationären Phase usw.). Zeitbestimmender und personalintensiver Faktor ist hierbei aber das manuelle Positionieren der DC-Platten bei der Aufnahme der Remissionsgrad-Ortskurven und

die anschließende Auswertung. Die on line-Kopplung des DC-Fotometers mit Integrator und Kleinrechner, wie sie bereits bei [1] beschrieben wurde, automatisiert zunächst lediglich die Auswertung, wobei zusätzlich ein Gewinn an Genauigkeit und Reproduzierbarkeit sowie der Ausschluß persönlicher Fehler erreicht wird. Moderne Densitometer tragen erheblich zur Erhöhung sowohl der Genauigkeit als auch der Nachweisgrenze bei [2] . Als konsequente Fortführung wird nun die Automatisierung der zeitaufwendigen manuellen Tätigkeiten bei der in situ-Auswertung von Dünnschichtchromatogrammen gefordert.

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit eben diesen Automatisierungsmöglichkeiten und diskutiert die jeweils auftretende systembedingte Problematik. Es werden verschiedene automatisch arbeitende Steuersysteme vorgestellt, angefangen von zeitsynchroner über volldigitale Schrittmotorsteuerung bis hin zum voll rechnergesteuerten System, bei dem sowohl Steuer- als auch Auswertungsprozeß von einem Tischrechner übernommen werden. Ferner wird eine Datenübergabelogik im Zusammenhang mit zig-zag-Scannern beschrieben, die die Voraussetzung zur Automatisierung auch dieses Abtastungsmodus schafft.

2. Industrielle Geräteentwicklung zur Auswertung von Dünnschichtchromatogrammen

Die gebräuchlichsten Methoden zur Vermessung von Dünnschichtchromatogrammen sind die Remissions-, Transmissions- und Simultanmessungen. Hierfür sind von der Industrie zahlreiche Geräte entwickelt worden, die die obengenannten Meßgrößen auf die unterschiedlichste Weise zugänglich machen.

Remissionsmessungen werden so durchgeführt, daß monochromatisches Licht durch eine spalt- oder punktförmige Blende auf die DC-Platte projiziert und das diffus gestreute, d. h. remittierte Licht mit Hilfe eines Photomultipliers im Winkel von 45° über der Platte gemessen wird. Meßwert ist letztlich die Remissionsminderung, die durch Absorption des eingestrahelten Lichtes durch den DC-Fleck hervorgerufen wird.

Eine Analogie zur Lösungsmittelphotometrie stellt die Messung der Transmission dar. Es wird hierbei das durch die DC-Platte hindurchtretende Licht vermessen.

Schließlich erlaubt das Zeiss DC-Spektralphotometer PM Q II oder KM 3 die simultane Messung von Remission und Transmission, die unter Verwendung unterschiedlicher Wichtungsfaktoren zur Glättung der Basislinie herangezogen werden kann [29].

Wesentliche Unterschiede zwischen den einzelnen Dünnschichtchromatogrammspektralphotometern liegen jedoch im Abtastungsmodus. Zu unterscheiden sind in diesem Zusammenhang: Einstrahl-, Zweistrahl- und Zweiwellenlängengeräte.

2.1 Einstrahlgeräte

Der Substanzfleck wird mit einem spaltförmigen Lichtband abgetastet, wobei Spaltbreite und Spurbreite frei wählbar sind. Das so erhaltene Meßsignal beinhaltet sämtliche Fehler, die durch Unregelmäßigkeiten sowie durch Gradienten der Sorbensschicht entstehen.

2.2. Zweistrahlgerte

Das Zweistrahlsprinzip gleicht Plattengradienten dadurch weitgehend aus, daß neben dem Meßspalt ein zweiter, als Referenz dienender Spalt angeordnet ist, der die Platte während der Messung zwischen den Bahnen, also auf substanzfreiem Untergrund abtastet. Die Messung erfolgt an unterschiedlichen Orten, so daß statistische Schwankungen der Untergrundremission in das Meßsignal mit eingehen.

2.3. Zweiwellenlängengeräte

Die Wellenlängen von Vergleichs- und Meßstrahl sind getrennt einstellbar. Beide Strahlen treffen alternierend jedoch an ein und demselben Ort der Platte auf. Ein entsprechend synchronisierter Verstärker liefert durch Quotientenbildung (Differenz der logarithmierten Meßsignale) das Ausgangssignal. Die Wellenlänge des Meßstrahles wird im allgemeinen ins Absorptionsmaximum der zu vermessenden Substanz gelegt, während die Substanz bei der Wellenlänge des Vergleichsstrahles nur wenig oder überhaupt nicht absorbieren sollte. Die Wellenlängendifferenz sollte jedoch nicht zu groß sein, da Untergrundabsorptionen ebenfalls wellenlängenabhängig sind. Das Shimadzu CS 900 verfügt außerdem über zwei Scanarten: zig-zag- und Linearscan.

2.3.1. Linearscan

Die DC-Platte wird mit konstanter Geschwindigkeit unter dem Meßspalt hindurchbewegt. Der Abtastungsmodus entspricht dem des PM Q II von Zeiss oder SD 3000 von Schoeffel.

2.3.2. zig-zag-Scan

Beim zig-zag-Scan wird die Platte zusätzlich zu der eben geschilderten Bewegungsrichtung um etwa ± 15 mm senkrecht dazu ausgelenkt. Dieses Verfahren ist als "Flying Spot" (Vitatron TLD 100) bekannt, jedoch wird dort die Auslenkung über einen Exzenter vorgenommen, so daß die Bewegung einer Sinus-Funktion und die Auslenkungsgeschwindigkeit einer Cosinus-Funktion entspricht, was zu erheblichen Integrationsfehlern führt. Das CS 900 von Shimadzu dagegen benutzt zur Linearisierung der Sinus-Funktion eine Herzscheibe, so daß die Bewegung nunmehr einer Dreiecksfunktion entspricht. Die Auslenkungsgeschwindigkeit ist mit Ausnahme der beiden Totpunkte über den gesamten Weg konstant. In Verbindung mit dem normalen Tischvorschub entsteht so eine dreieckartige Abtastung des Fleckes, wobei die Vorschubgeschwindigkeit so gewählt werden kann, daß bei quadratischer Meßfläche jeder Punkt des DC-Fleckes exakt zweimal überstrichen wird [1] . Es ist somit gewährleistet, daß selbst bei ungenügender Fleckpositionierung mit Sicherheit auch das Remissionsmaximum überstrichen wird. Insofern gestaltet sich die Auswertung über die Peakhöhe des so gewonnenen Konzentrationsprofils sehr einfach, da das bei den Linearscannern zwingend notwendige Positionieren entfällt.

3. Konventioneller Betrieb und Datenerfassung

Methoden zur quantitativen Auswertung von Dünnschichtchromatogrammen sind in der Literatur bereits beschrieben. Wenn man von dem äußerst zweifelhaften Elutionsverfahren absieht, sind die gebräuchlichsten:

A) Aufzeichnung der Remissionsgrad-Ortskurve

a) Flächenbestimmung

1. mit Planimeter
2. Peakhöhe x Peakbreite bei halber Höhe
3. ausschneiden und wägen

b) Auswertung über die Peakhöhe

B) elektronische Integration des Meßsignals über die Zeit.

Die so gewonnenen Daten können dann off line oder on line mit Hilfe von Tischrechnern über die verschiedensten Funktionen ausgewertet werden [1] .

Allen Methoden gemeinsam ist die zeitaufwendige und für den Routinebetrieb personalintensive Bedienung der Dünnschichtscanner. Nach dem Einlegen der entwickelten DC-Platte in den Scanner wird der erste Fleck der ersten Bahn positioniert, d. h., der Kreutztisch wird solange in x- und y-Richtung verschoben, bis sich bei angeschlossenem Schreiber kein größerer Ausschlag mehr erzielen läßt; das darauf folgende Abscannen soll diesen Wert ja als Peakmaximum aufzeichnen (Unter y-Richtung soll hier die Entwicklungsrichtung verstanden werden. Eine Bewegung in x erfolgt dann senkrecht dazu).

Ist der Fleck im Meßspalt optimal positioniert, scannt man die gesamte Bahn ab und wiederholt die Prozedur bei der zweiten und allen folgenden Bahnen. Da es sich hierbei um immer die gleichen Handgriffe handelt, ist zu überlegen, ob nicht

eine wenigstens teilweise Automatisierung eine Zeitersparnis bringen würde, und sei es auch nur, daß man das Gerät während der eigentlichen Abtastung sich selbst überlassen könnte.

4. Automatisierter Betrieb

4.1 Voraussetzungen zur Automatisierung des Zeiss PM Q II

Das Zeiss-DC-Spektralphotometer PM Q II ist mit einem Kreuztisch ausgerüstet, der es gestattet, eine DC-Platte in ihren beiden Richtungen abzutasten. Den y-Transport besorgt ein eingebauter Synchronmotor, während die einzelnen Bahnen von Hand über einen Fein-Grob-Trieb einzustellen sind. Um den x-Vorschub ebenfalls elektrisch steuern zu können, mußte dieser Fein-Grob-Trieb gegen einen Synchronmotor mit entsprechendem Getriebe ausgetauscht werden. Um die Änderungen am PM Q II so gering wie möglich zu halten - konventionelle Handbedienung soll nach wie vor möglich sein - wurde die für die y-Bewegungsrichtung bestehende Relaissteuerung beibehalten und ähnlich auch für den x-Antrieb übernommen. Die Bahnbegrenzung übernehmen zwei durch verstellbare Anschläge betätigte Mikroschwitches. Auch diese Endabschaltung wurde für den x-Vorschub sicherheitshalber mit übernommen. Nunmehr sind x- und y-Antrieb über je drei Drucktasten zu steuern, wie dem folgenden Schaltbild zu entnehmen ist.

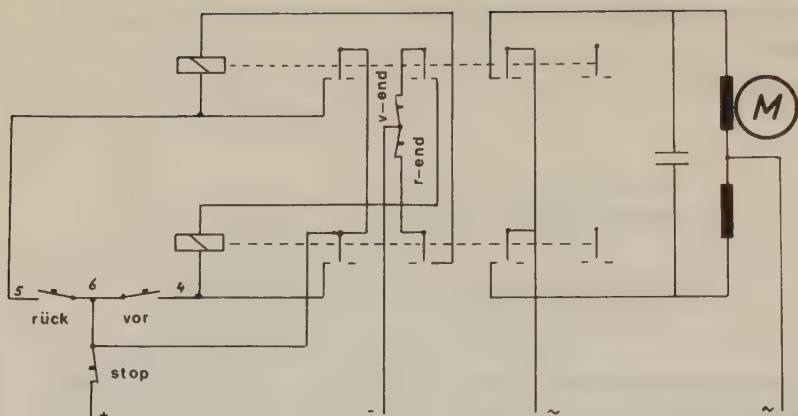


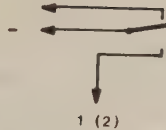
Abb. 4.1 Relais-Steuerung des x- bzw. y-Antriebes

Das angeschlossene Steuergerät braucht nur die Funktion dieser Drucktasten zu übernehmen und die Rückmeldung der x- bzw. y-Endanschläge zu verarbeiten. Um nichts an Flexibilität einzubüßen, wurden die entsprechenden Drucktaster- und Mikroschalterkontakte auf je eine 6-polige Steckverbindung gelegt. Bei den Endabschaltern wurde das stromführende Kabel vom Ruhekontakt auf den Umschaltkontakt umgelötet und der bisher freie Arbeitskontakt auf Punkt 1 bzw. 2 der Steckverbindung gelegt. Die Funktionstasten wurden wie folgt geschaltet:

Min. Schalter



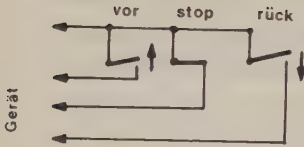
vorher



nachher

a)

Funktionstasten



Gerät

b)

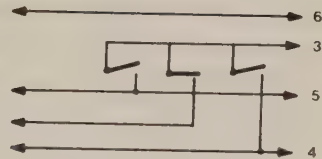


Abb. 4.2 Schaltung der Endanschläge (a), sowie der Funktionstasten (b)

Wie aus den Abbildungen ersichtlich, müssen die Anschlüsse 3 und 6 für Normalbetrieb, d.h. ohne Steuerlogik, miteinander verbunden werden. Am einfachsten geschieht dies mittels eines Blindsteckers. Damit sind sämtliche Voraussetzungen auf Seiten des PM Q II zur automatischen Steuerung geschaffen.

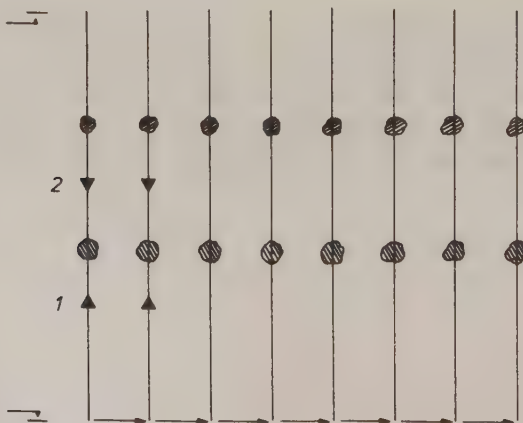
4.1.1. Zeitanaloge Scansteuerung [4]

Da die Drehzahl der Synchronmotoren praktisch konstant ist, ist der vom Kreuztisch zurückgelegte Weg linear proportional der Zeit. Es ergeben sich hier allerdings Fehler durch undefinierbare Anlauf- und Abbremszeiten, die in der Praxis aber vernachlässigt werden können. Der x-Motor z.B. braucht also nur für eine bestimmte und jedesmal gleiche Zeit Strom zu bekommen, um die DC-Platte von einer Bahn zur nächsten zu transportieren, vorausgesetzt, der Bahnabstand ist jedesmal gleich. Ein Präzisionszeitgeber schließt hierzu über ein Relais die Taste x-vor für eine vorwählbare Zeit (= Bahnabstand z.B. 2,0 cm). Die Länge der y-Bahn dagegen wird von den vorgesehenen Endabschaltern bestimmt, von denen der hintere die Umkehrung der Bewegungsrichtung, also den Rücklauf zur Startlinie, der vordere den x-Start übernimmt.

4.1.2. Anforderungen an das Steuersystem

Der in der zeitanalogen Scansteuerung fest programmierte Bewegungsablauf der DC-Platte ist aus der folgenden Abbildung zu entnehmen:

Abb. 4.3



Die erste Bahn wird manuell positioniert. Der Kreutztisch wird daraufhin in y-Richtung noch etwas nach hinten verschoben, so daß der Meßspalt nunmehr vor dem ersten Fleck auftritt. Nach Starten des Systems bewegt sich der Kreutztisch in y mit konstanter Geschwindigkeit vorwärts bis zum hinteren Endanschlag (Mikroschalter). Die Bewegungsrichtung wird jetzt umgekehrt, d.h. die DC-Bahn wird in sich selbst zurück abgescannt. Eine an den Meßverstärker angeschlossene Integrator-Tischrechnerkombination errechnet aus Vor- und Rückscan die Mittelwerte der Integrale der einzelnen Flecken, um Basisliniendriften zu eliminieren [1]. Der vordere Endanschlag stoppt den y-Motor und triggert gleichzeitig den Zeitgeber für den x-Vorschub. Nach Ablauf der eingestellten Zeit (= Bahnabstand) erfolgt x-Stop und y-Start zum Abscannen der nächsten Bahn in der beschriebenen Weise.

Sollen auch Mehrkomponentengemische vermessen werden, die eine Wellenlängenumschaltung während der Bahnabastung erforderlich machen, so muß der Bewegungsablauf an der vorgewählten Stelle angehalten werden. Das Steuersystem gibt daraufhin einen Impuls an den Monochromatorantrieb. Über verstellbare Mikroschalter können zwei Wellenlängen gewählt werden. Nach Umschaltung der Wellenlänge läuft der Kreutztisch in der bisherigen Richtung weiter. Beim Rückscan wird an derselben Stelle angehalten und die Wellenlänge auf den Anfangswert zurückgeschaltet. Es muß an dieser Stelle gleich darauf hingewiesen werden, daß eine Wellenlängenumschaltung nur dann sinnvoll ist, wenn das Fotometer über eine 100%-Verstärkerautomatik verfügt, d.h. die wellenlängenabhängige Untergrundremission muß automatisch neu abgeglichen werden.

Als Nachfolgemodell des PM Q II wurde von Zeiss, Oberkochen, das KM 3 in den Handel gebracht, das die erwähnte Verstärker-

automatik besitzt. Für unsere Arbeiten stand lediglich das PM Q II zur Verfügung, so daß die Wellenlängensteuerung nicht ausgetestet werden konnte. Das Steuersystem enthält jedoch die komplette Logik dazu, die weiter unten ausführlich beschrieben wird.

4.1.3. Realisierung

Nachdem nun die Anforderungen an das Steuersystem herausgearbeitet worden sind, kann mit der Besprechung der Elektronik begonnen werden. Das Blockschaltbild soll dabei einen Überblick über die verschiedenen Baugruppen verschaffen.

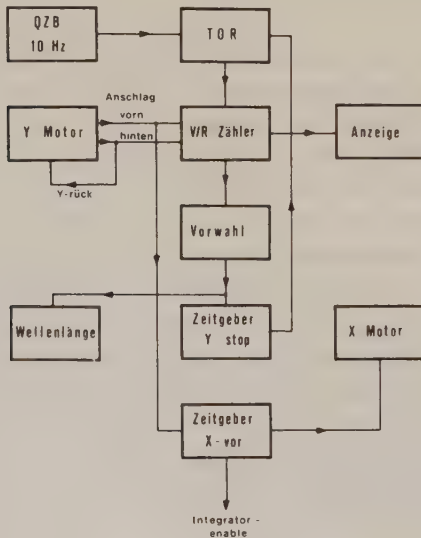


Abb. 4.4 Blockschaltbild

Ein Quarzoszillator erzeugt über eine nachgeschaltete Teilerkette Rechteckimpulse mit einer Frequenz von genau 10 Hz. Diese gelangen über ein Tor zu einem Vor-Rück-Zähler, dessen Zählrichtung von den beiden y-Anschlägen bestimmt wird. Wird der vordere Anschlag betätigt, zählt der Zähler vorwärts. Eine 7-Segment-Anzeige zeigt laufend den Zählerstand an. Bewegt sich nun der Kreutztisch in y-Richtung vorwärts, zählt der Zähler die Zeitimpulse synchron mit. Parallel zur Anzeige wird der Zählerinhalt nun von einer Vorwahlschalter-Kombination abgefragt. Mit diesen Vorwahlschaltern wird, als Impulszahl, die Stelle auf der DC-Platte angegeben, bei der eine Umschaltung der Wellenlänge erfolgen soll. Hat der Zähler die vorgewählte Zahl erreicht, gibt er einen Impuls an den Zeitgeber y-stop und gleichzeitig an die Wellenlängenumschaltung. Der Zeitgeber sperrt das Tor und stoppt den y-Motor für die Zeit der Umschaltung. Nach Ablauf der fest eingestellten Stop-Zeit wird das Tor wieder geöffnet, Kreutztisch und Zähler laufen in der vorherigen Richtung weiter. Bei Berührung des Endanschlages hinten wird sowohl die Zählrichtung als auch die y-Bewegungsrichtung umgekehrt. Die DC-Bahn wird nun in sich selbst rückwärts abgetastet. Erreicht der Zählerstand wieder den vorgewählten Punkt, stoppt der y-Vorschub, ebenso der Zähler, und die Wellenlänge wird auf den anfänglichen Wert zurückgestellt. Nach Ablauf der Stop-Zeit laufen Zähler und Kreutztisch weiterhin rückwärts bis zum vorderen Anschlag. Jetzt werden y-Motor und V/R-Zähler gestoppt. Gleichzeitig wird der x-Zeitgeber getriggert und der angeschlossene Integrator gesperrt. Der x-Zeitgeber steuert nun den x-Motor gemäß der eingestellten Zeit, die sich nach dem Bahnabstand richtet, bis zur nächsten Bahn. Nach Ablauf dieser Zeit wird der x-Motor gestoppt, während der y-Motor zusammen mit dem Zähler zur Abtastung der nächsten Bahn anläuft. Die Sperre des Integrators ist jetzt aufgehoben, der Steuerzyklus beginnt von neuem.

4.1.4. Beschreibung der Elektronik

Der Ort der Wellenlängenumschaltung muß bei jeder Bahn sowohl bei Vor- als auch bei Rücklauf exakt wiedergefunden werden. Als Zeitbasis hierfür dient ein 10 MHz-Quarz, dessen Frequenz durch 6 x SN 7490 auf 10 Hz heruntergeteilt wird.

051273

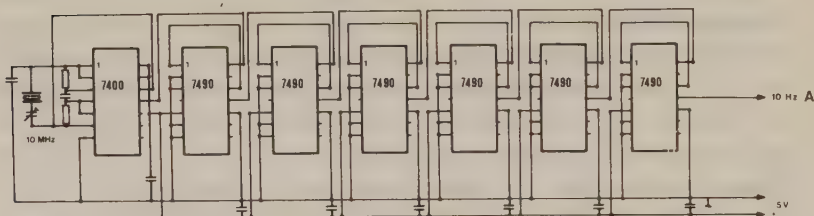


Abb. 4.5 Quarzzeitbasis

Zwei Opto-Koppler auf demselben Print übernehmen die Signale von den Endanschlägen der y-Bahn und setzen sie TTL-kompatibel um.

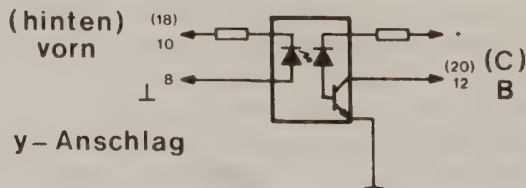


Abb. 4.6 Galvanisch getrennte Verbindung zwischen Endschaltern und Steuergerät mittels Opto-Koppler

Steht der Kreutztisch am Start, ist der vordere Anschlag betätigt und Opto-Koppler 1 durchgeschaltet, d.h. Punkt B führt L-Potential. Über 2 x BC 108 wird der V/R-Zähler auf Null gesetzt und das zählrichtungsbestimmende Flip-Flop auf "vorwärts" geschaltet. Das Zähltor bleibt so lange geschlossen, bis der Plattentisch, nach Drücken der Starttaste am Fotometer, den vorderen Anschlag verlassen hat. Die Zählimpulse gelangen nun von der Quarzzeitbasis (Punkt A) über das Zähltor (1/2 SN 7440) zu einem Vor-/Rück-Zähler, bestehend aus 5 x SN 74190.

290873

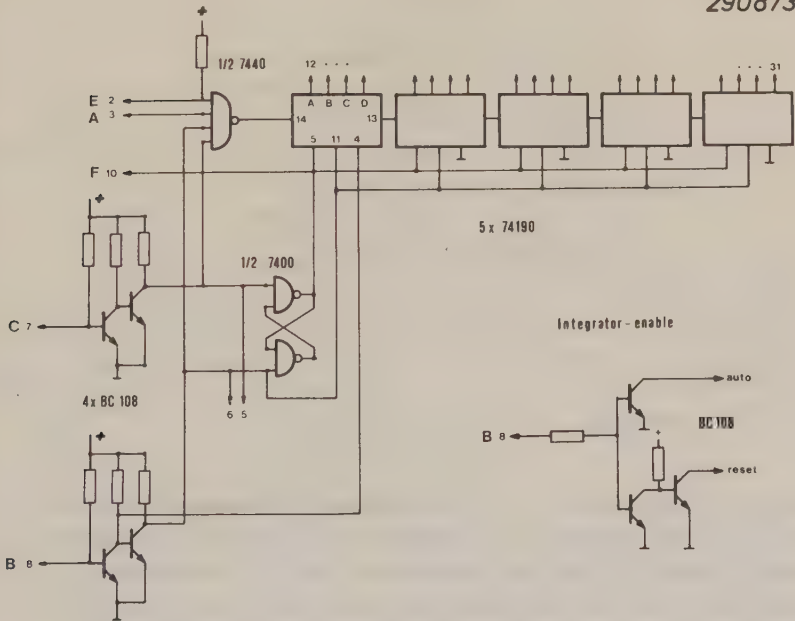


Abb. 4.7 Vor-/Rück-Zähler mit Integratorsteuerung

Die Ausgänge der 2., 3. und 4. Dekade führen zu 3 BCD/7-Segment-Decodern. Drei Minित्रons zeigen den Zählerstand an, wobei auf die Anzeige der Zehntel- und Tausend-Sekunden verzichtet wurde.

281173

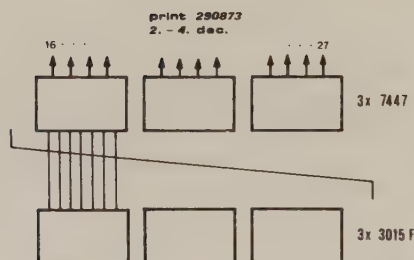


Abb. 4.8 Anzeige

Parallel dazu werden alle Zählerausgänge dezimal decodiert und 5 Vorwahlschaltern zugeführt. Die Ausgänge der Schalter werden invertiert und in einem NAND SN 7430 zusammengefaßt, dessen Ausgang dann und nur dann "L" wird, wenn alle Eingänge "H", d.h. die eingestellte Zahl auf allen Dekaden erreicht ist.

291173

print 290873

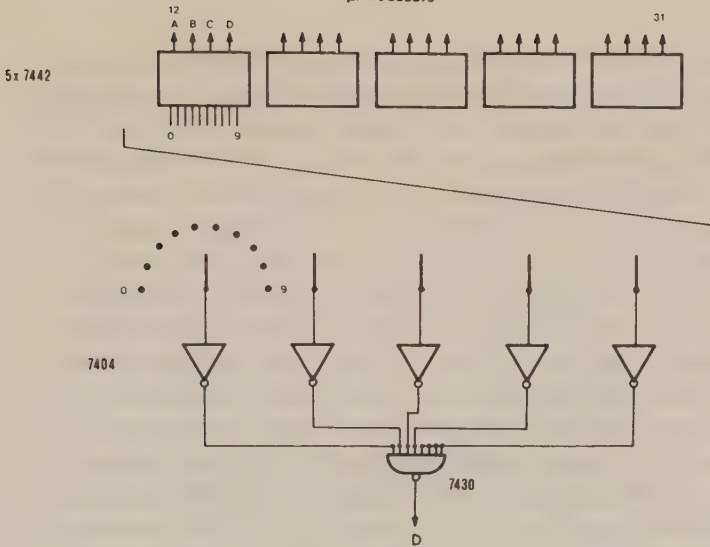
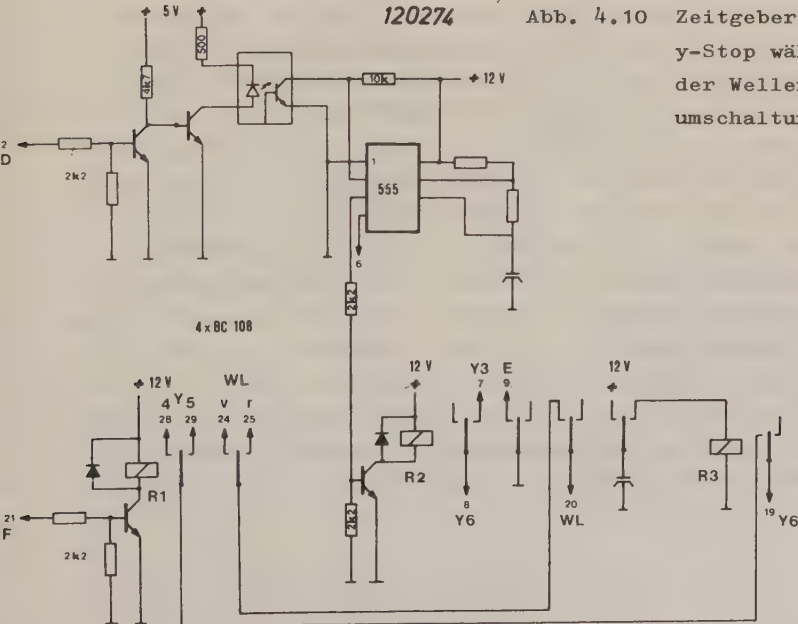


Abb. 4.9 Dezimale Vorwahl

120274

Abb. 4.10 Zeitgeber für y-Stop während der Wellenlängenumschaltung



Der Ausgang dieses NAND's triggert über Punkt D y-Stop, bestehend aus dem Präzisionszeitgeber NE 555. Dieser liefert für eine konstante, von R und C abhängige Zeit, "H"-Potential am Ausgang. Das von einem BC 108 geschaltete Relais R 2 zieht an und unterbricht die Stromzuführung zum y-Motor (Y 3 / Y 6). Die beiden im Fotometer eingebauten Relais fallen nun ebenfalls ab (Stop-Situation). Zum Weiterlauf müssen sie neu gesetzt werden. Gleichzeitig mit dem Abschalten des y-Motors wird über ein anderes Kontaktpaar desselben Relais der Start des Wellenlängenmotors ausgelöst (WL) und über Punkt E das Zähltor gesperrt. In den meisten Fällen werden keine prellfreien Relais zur Verfügung stehen. Die Kontaktgabe muß dann, wo nötig, auf elektronischem Wege prellfrei gemacht werden. Der Wellenlängenantrieb läuft nun bis zu der am Fotometer einzustellenden Marke. Nach Ablauf der fest eingestellten Wartezeit geht der Ausgang des NE 555 von "H" nach "L" zurück, R 2 fällt ab, der y-Motor wird über R 3, das jetzt kurzzeitig anzieht, erneut gestartet. Die Drehrichtung, die dieser Weiterlaufimpuls auslöst, hängt ab vom Potential der Betriebszustandsleitung F des Zählers. Ein hiervon gesteuertes Relais R 1 legt diesen Impuls entweder auf die Vorlauf- oder Rücklauf-Startleitung (Y 5 oder Y 4). Ebenso wird durch dieses Relais die Richtung der Wellenlängenänderung bestimmt. Lief der Plattentisch bisher vorwärts, so wird ihn der Weiterlauf-Impuls in der gleichen Richtung starten, da sich das Potential der Betriebszustandsleitung bisher nicht geändert hat. Berührt der Kreuzzisch dann den hinteren Anschlag (Y 2) zieht R 4 kurzzeitig an und startet über Y 4 / Y 6 den y-Rücklauf. Gleichzeitig wird, wiederum über Opto-Koppler, auf Print 290873 das Richtungsflipflop gekippt, der Zähler zählt nun rückwärts, während sich der Plattentisch ebenfalls rückwärts bewegt. Wird während der Rückwärtszählung wieder der vorgewählte

Zählerstand erreicht, wird der y-Transport wie vorher gestoppt und die Wellenlänge, da sich der Betriebszustand des Zählers inzwischen geändert hat, auf den alten Wert zurückgestellt. Ebenso bewirkt der anschließende Start "Weiterlauf rückwärts".

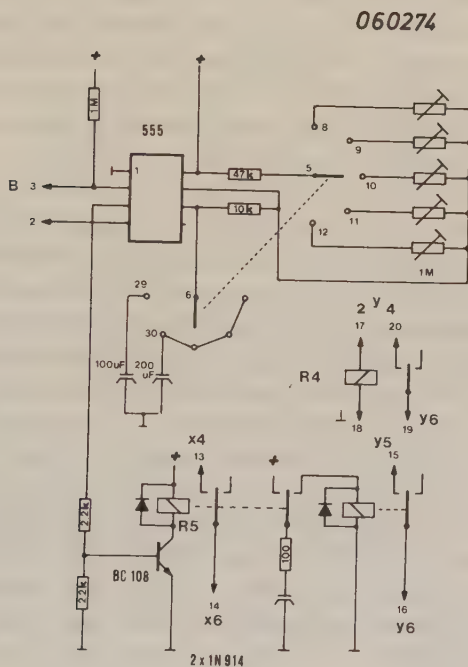


Abb. 4.11 x-Zeitgeber

Schlägt der Kreutztisch bei seinem Rücklauf nun am vorderen Anschlag an, stoppen y-Motor und Zähler, Zähler und Integrator erhalten "reset", die Zählrichtung wird wieder auf "vorwärts" umgeschaltet und schließlich der x-Zeitgeber getriggert (B). Letzterer ist ähnlich wie der y-Zeitgeber aufgebaut. Es können hier fünf feste Zeiten vorgewählt werden, welche dem jeweils verwendeten Bahnabstand entsprechen müssen. Der x-Motor erhält also für die Dauer der eingestellten Zeit über R 5 Strom (X 4 / X 6) und bewegt den Kreutztisch bis zur nächsten Bahn. Ein Abfallen des Steuerrelais bewirkt über Y 5 / Y 6 erneuten Start in y-Richtung. Der angeschlossene Integrator wird von "reset" wieder auf "auto" geschaltet, der Abtastvorgang beginnt von neuem.

Wie schon eingangs erwähnt, wurde, um möglichst wenig am Fotometer ändern zu müssen, die Relaissteuerung der Motore beibehalten und auch in die Steuerlogik übernommen. Diese, vom heutigen Stand der Elektronik aus betrachtet, wenig elegante Lösung des Problems, nämlich Steuerung mittels Relaiskontakten und den damit zusammenhängenden Nachteilen, verdeutlicht doch den Programmablauf und zeigt auch, daß mit verhältnismäßig geringem Aufwand eine Schaltung entworfen werden kann, die den Erfordernissen der Praxis durchaus gerecht wird, wie die Ergebnisse im folgenden Kapitel zeigen. Einen erheblichen Gewinn an Präzision und nicht zuletzt an Störsicherheit bringt eine volldigitale, kontaktlose Steuerlogik, die im Zusammenhang mit dem Schoeffel Densitometer SD 3000 weiter unten beschrieben werden wird.

4.1.5. Gerätekombination

Als Gerätekombination wurde das umgebaute Zeiss-DC-Spektralfotometer in Verbindung mit der beschriebenen Scansteuerung

mit einem Integrator und einem programmierbaren Tischrechner im on line-Betrieb gekoppelt. Parallel zum Integrator wurde noch ein Schreiber angeschlossen, um das Meßsignal kontrollieren zu können. Gleichzeitig ergab sich hierdurch die Möglichkeit der Auswertung über die Peakhöhe.

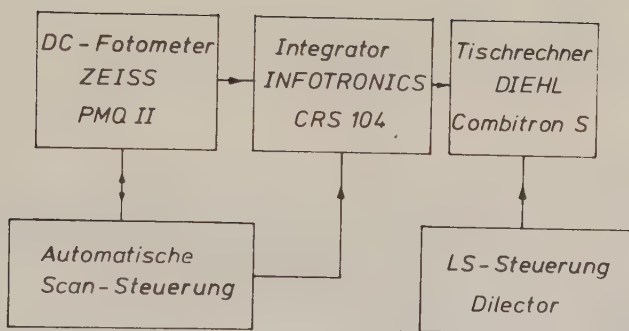


Abb. 4.12 Gerätekombination

4.1.6. Auswertung

Der Analysenlösung Aminopyrin wird als Standard Phenazon zugesetzt und nach chromatographischer Trennung mit der Methode des internen Standards [5] ausgewertet. Man ermittelt aus den Fleckflächen des Standards auf Eich- und Analysenbahn einen Faktor

$$f' = c_x, \text{ Eich.} \frac{F_{\text{st, Eich.}}}{F_{\text{st, Anal.}}} \quad (1)$$

und berechnet die unbekannte aus der bekannten Konzentration

$$c_x, \text{ Anal.} = f' \frac{F_{x, \text{ Anal.}}}{F_{x, \text{ Eich.}}} \quad (2)$$

c	=	Gesamtkonzentration im DC-Fleck
F	=	Integral der Remissionsgrad-Ortskurve
Index x	=	zu bestimmende Substanz
st	=	interner Standard
Eich.	=	Eichbahn
Anal.	=	Analysenbahn

Auf allen acht Bahnen jeder Platte wurde zur Austestung der Methode dieselbe Lösung aufgetragen. Es wurden zwei Bahnen zur Eichung herangezogen (Bahn 1 und Bahn 5), die verbleibenden sechs Bahnen wurden als Analysen ausgewertet.

4.1.7. Durchführung und Ergebnisse

Um die Genauigkeit der Analysensteuerung auszutesten, wurde auf jeder Platte dieselbe Konzentration einer Lösung, bestehend aus Aminopyrin und Phenazon, achtmal punktförmig aufgetragen. Den Abstand der Bahnen ermittelten wir - Geräteeinstellung 20 mm - experimentell, um die Ansteuerungsgenauigkeit des Synchronmotors systematisch zu erfassen, und legten ihn auf einer Schablone fest. Nach der chromatographischen Entwicklung wurde jeweils die erste Plattenbahn positioniert, wobei die Auftragemarkierung mit der entsprechenden Marke am Densitometer übereinstimmen mußte, die Bahnlänge durch Verstellen der Anschlagpuffer eingegrenzt und dann die Automatik in Betrieb gesetzt und die ganze Platte abgescannt. Jede Platte wurde auch nach der üblichen Methode durch manuellen Tischvorschub in x-Richtung und Fleckpositionierung ausgewertet. Bei beiden Versuchen verwendeten wir die 8 mm - Einsteckblende, um die Flecken ganz zu erfassen.

Aus der genauen Auflistung der Ergebnisse von insgesamt 30 Analysen im automatischen Scanbetrieb und bei manueller Positionierung aller DC-Bahnen sieht man, daß - z. T. bedingt durch den chromatographischen Trennprozeß - nicht jeder Fleck optimal von der Automatik erfaßt wird. Bedingt durch das optische System des Zeiss - DC - Fotometers ist das Signal eines DC-Fleckes, auch wenn er vom Meßspalt vollständig erfaßt wird, abhängig von der relativen Lage des Fleckes im Meßspalt.

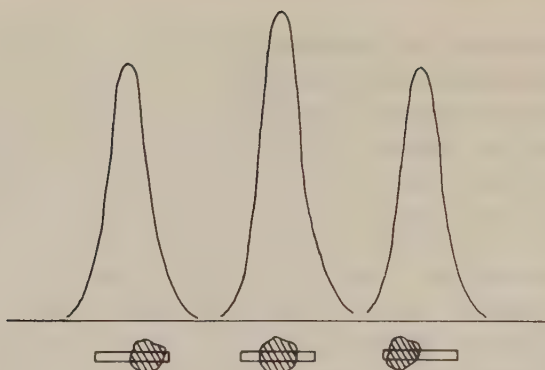


Abb. 4.13 Abhängigkeit des Fotometersignals von der Lage des Fleckes im Meßspalt

4.1.7.1. Punktförmige Auftragung

Tab. 4.1 Ergebnisse der Bestimmung von Aminopyrin mit Phenazon als internem Standard. Auftragung punktförmig, manuelle Positionierung

98.98	98.71	96.65	
97.66	100.09	99.28	
97.69	100.49	98.55	
99.33	101.94	98.40	$\bar{x}$ = 99.57
100.47	101.92	99.38	s = 1.452
99.96	99.95	102.61	s_{rel} = 1.458%
99.89	100.01	100.93	
98.47	99.58	102.22	(n = 28)
97.87	99.54		
98.77	98.55		

(% vom Sollwert = 100%)

Tab. 4.2 Ergebnisse derselben DC-Platten,
 automatisches Abscannen

99.98	102.70	100.63	
102.17	98.34	99.06	
102.63	96.11	100.17	$\bar{x}$ = 100.12
100.68	94.61	101.81	$\bar{s}$ = 2.060
102.70	101.05	99.42	$\bar{s}_{rel}$ = 2.058%
102.47	100.34	101.29	
102.49	100.18	98.02	(n = 28)
98.67	99.87	102.99	
99.39	100.11		
99.93	96.64		

4.1.7.2. Dreipunktauftragung

Zur Vermeidung des Fehlers, der durch die nicht optimale Lage des DC-Fleckes zum Meßspalt auftritt, wurde eine andere Auftragetchnik gewählt. Mit Hilfe von Mikrokapillaren ($0,5 \text{ mm}^3$ Microcaps) wurden am Start drei Auftrageflecke im Abstand von jeweils 2 mm aufgetragen, wobei der mittlere Fleck der genauen Startposition entspricht, die auch von der Automatik angesteuert wird. Mit dieser Auftragung wird praktisch eine bandförmige Auftragung simuliert, wie sie sonst nur mit teuren und aufwendigen Auftragesystemen erreicht wird. Weiterhin entfällt bei dieser Auftragetchnik das lästige Spülen und Reinigen der Spritzen, die bei kommerziellen Systemen benötigt werden.

Die Ergebnisse, die mit dieser Auftragetchnik unter Verwendung der Scanautomatik erzielt wurden, waren noch etwas besser als die Ergebnisse mit punktförmiger Auftragung und manueller Positionierung aller DC-Bahnen.

Tab. 4.3 Ergebnisse der Bestimmung von Aminopyrin mit Phenazon als internem Standard. Auftragung $3 \times 0,5 \text{ mm}^3$ in 2 mm Abstand, automatisches Abscannen

100.73	98.60	101.32		
101.72	99.55	99.57		
99.44	100.89	99.99		
100.53	100.11	99.87	$\bar{x}$	= 100.098
99.92	102.04	100.51	$\bar{G}$	= 1.259
102.63	98.20	99.57	$\bar{G}_{\text{rel}}$	= 1.257%
101.33	99.23	102.03	(n	= 28)
99.72	99.37	97.84		
98.36	98.25			
100.04	101.39			

(% vom Sollwert = 100%)

Die Anwendung dieses Verfahrens auf die Tablettenanalyse (Content Uniformity Test CUT entsprechend den Good Manufacturing Practices GMP der WHO) ergab bei Pyramidontabletten (Farbwerke Hoechst, Charge L 115, deklariierter Gehalt 300 mg Aminopyrin) als Ergebnis 297.1 mg / Tablette bei einer Streuung von $\pm 2,1\% \hat{=} 6.2 \text{ mg}$ (als relative genäherte Standardabweichung, bei $n = 18$).

4.1.8. Experimentelle Angaben

Substanzen: Aminopyrin, Phenazon (jeweils reinste Handelsqualität)

Tabletten: Pyramidon 0.3 Farbwerke Hoechst AG, Charge L 115

Lösungen: Je 300 mg Phenazon und Aminopyrin werden in 100 cm^3 Aethanol gelöst. 1 Tablette Pyramidon nach Zugabe von 300 mg Phenazon in 100 cm^3 Aethanol lösen.

DC-Platten: Fertigplatten Kieselgel 60 (Merck)

Fließmittel: Aceton / Tetrachlorkohlenstoff
(40 + 10) V/V (p.a. Qualität,
E. Merck, Darmstadt)

DC-Bedingungen: Kammersättigung, bei 20° C thermosta-
tisiert, 10 cm Laufstrecke, senkrechte
Plattenstellung

Auftragetechnik: Microcaps (Drummond Scientific, Ver-
trieb Shandon Labortechnik, Ffm.)
Auftragemenge 0.5 mm³ $\hat{=}$ 1.5 μ g pro Sub-
stanz und DC-Fleck

Zeiss-

DC-Fotometer: Meßanordnung: Lampe - Monochromator -
Multipliiert;
Meßwellenlänge: 265,2 nm
Lichtquelle: Hg-Lampe St 41
Meßkopfhöhe: 2.5 mm
Spaltlänge:
a) punktförmig aufgetragen: 8 mm
b) Dreipunktauftragung: 3,5 mm
Spaltbreite: 1 mm
Tischvorschub: 30 mm/min

Infotronics

Integrator CRS 104: Baseline Tracking: 600 μ V/min
Threshold level: 200 μ V
count rate: 4 kHz
Input noise re-
jection: 6
Slope sensi-
tivity: 2
Digital filtering: 800 counts

4.2. Automatisierung des Schoeffel SD 3000

Gegenüber den bisher aufgeführten Messungen im Einstrahl-Betrieb bietet das Zweistrahlprinzip erhebliche Vorteile. Für den Routinebetrieb von Interesse ist z.B. der größere zur Auswertung verwendbare Plattenbereich, da sich Störungen durch die Fließmittelfront nicht so stark bemerkbar machen. Eine Gegenüberstellung der verschiedenen Methoden mit Funktionsschema ist bei [3] zu finden.

Es liegt nun nahe, die für das Einstrahlgerät PM Q II beschriebene Scan-Automatik in ähnlicher Form auf ein Zweistrahlgerät zu übertragen.

Als Grundlage für die neue Konzeption eines automatischen Scan-Systems diente ein Einwellenlängen-Zweistrahl-DC-Fotometer (Schoeffel SD 3000). Damit der durch die andere Meßtechnik erzielbare Genauigkeitserfolg auch voll zur Geltung kommen kann, müssen an die Steuerelemente noch höhere Anforderungen bezüglich der Präzision gestellt werden. Da sind zunächst die Synchronmotore, die, wenn man nicht einen unvergleichlich hohen elektronischen Aufwand treiben will, mit einfachen Mitteln nicht exakt genug steuerbar sind. Ferner sollte von der Relais-Steuerung auf kontaktlose volldigitale Steuerung übergegangen werden.

4.2.1. Volldigitale Scansteuerung

Das SD 3000 ist in der Originalversion mit einem Synchronmotor für die y-Bewegungsrichtung des Plattentisches ausgerüstet. Der x-Antrieb erfolgt manuell über ein Rändelrad mit Zahnriemen. Zur Automatisierung wurde das Gerät nun so umgebaut, daß der Plattentisch durch zwei Schrittmotore in x- und y-Richtung beliebig bewegt werden kann. Der Ablauf der Abtastung ent-

spricht im wesentlichen der Methode, die bei der Automatisierung des Zeiss PM Q II bereits beschrieben wurde.

Vor allem wurde das Scannen in und gegen die Entwicklungsrichtung und anschließende Mittelwertbildung der vom Integrator bestimmten Peakflächen beibehalten, da hierdurch eine wesentlich verbesserte Genauigkeit erreicht wird [6] .

4.2.2. Anforderungen an das Steuersystem

Die Elektronik wurde so aufgebaut, daß folgende Parameter für die vollautomatische Auswertung der gesamten Platte vorgewählt werden können:

1. Länge der auszuwertenden Bahn
2. Abstand der Bahnen untereinander
3. Zahl der auszuwertenden Bahnen

Da auch bei diesem System der erste Fleck der ersten Bahn manuell positioniert werden muß, muß eine entsprechende Positioniereinrichtung beim Entwurf der Schaltung vorgesehen werden. Der Plattentisch soll außerdem nach Beendigung der gesamten Auswertung zum Ausgangspunkt zurückfahren, so daß jetzt lediglich die Platte gewechselt werden muß; das System ist sofort wieder startbereit.

Die Gerätekombination ist dem folgenden Bild zu entnehmen:

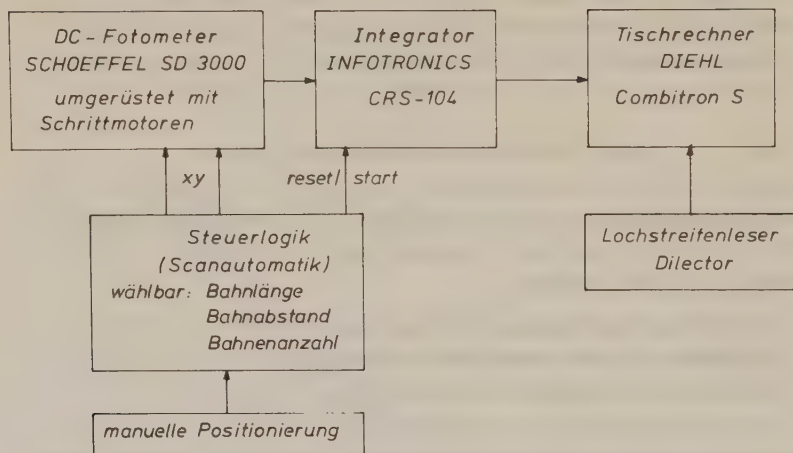


Abb. 4.14 Gerätekombination

Diese Anordnung läßt sich bezüglich der Auswertungsseite beliebig abwandeln, z.B. Digitalvoltmeter statt Integrator und Auswertung über Peakhöhe - vor allem bei strichförmiger Auftragung ergeben sich hierdurch Vorteile - oder eine unmittelbare Kopplung über einen A/D-Wandler an ein bestehendes größeres Rechnersystem bieten sich an und werden z.T. auch in der pharmazeutischen Qualitätskontrolle eingesetzt.

4.2.3. Schaltungsentwicklung

Soll ein Synchronmotor mit der verlangten Präzision angesteuert werden, so setzt dies einen komplizierten Servo-Regelmechanismus voraus. Abgesehen von den hohen Kosten ergibt sich auch eine ziemliche Störanfälligkeit. Daneben ist, bei Verwendung digitaler Systeme, eine Analog-/Digital-bzw. Digital-/Analog-Umsetzung erforderlich. Solchen Systemen sind damit Grenzen gesetzt. Von modernen Konstruktionen wird heutzutage verlangt, daß sie direkt aus einer digitalen Quelle gesteuert werden können. Diese Forderung wird durch den Einsatz von Schrittmotoren erfüllt.

Die Antriebswelle des Motors dreht sich bei jedem Schritt, der dem Motor in Form eines Impulses aus dem elektronischen Steuerschalter zugeführt wird, um einen bestimmten und jedesmal gleichen Winkel weiter. Der Schrittwinkel hängt vom Motortyp ab und kann zwischen $3^{\circ}45'$ und 15° liegen. Die hier eingesetzten Motore besitzen einen Schrittwinkel von $7^{\circ}30'$, d.h., die Antriebswelle dreht sich bei 48 Schritten genau um 360° . Hierbei ist der Winkel eines Einzelschrittes auf $\pm 20'$ genau, wobei sich die Winkeltoleranz nicht addiert. Dies ist für den vorliegenden Anwendungsfall von besonderer Bedeutung.

Die Zeit für eine volle Motorumdrehung hängt ab von der Geschwindigkeit der steuernden Impulse, also von deren Frequenz. Es kann jedoch nicht jede beliebige Steuerfrequenz verwendet werden. Näheres darüber ist den Datenblättern zu den jeweils verwendeten Motortypen zu entnehmen [7]. Für unseren Anwendungsfall zeigte sich eine Steuerfrequenz von 100 Hz als geeignet. Diese muß allerdings hochkonstant sein, da sich eine Geschwindigkeitsabweichung in den Integrationswerten niederschlagen würde.

Die durch entsprechende Teilung auf 100 Hz heruntergesetzte Quarzfrequenz von 10 MHz wird über jeweils ein Tor für x- und y-Richtung, die wechselseitig geöffnet bzw. geschlossen werden können, für beide Antriebe verwendet. Über einen Steuerschalter und ein Kompensationsnetzwerk werden die Rechteckimpulse unmittelbar den entsprechenden Motoren zugeführt. Die y-Impulse gelangen gleichzeitig auf einen Vor/Rück-Zähler, der die Schrittzahl mitzählt und dadurch die Position der Platte erkennt. Der Zählerinhalt wird laufend von einer Vorwahlschalterkombination abgefragt, mit welcher die Bahnlänge codiert einstellbar ist.

Nach Erreichen der vorgewählten Position werden Motordrehrichtung und Zählrichtung umgekehrt, und die DC-Bahn bis zur Position $\emptyset$ rückwärts abgescannt. Die Nullerkennung sperrt jetzt das y-Tor, öffnet das x-Tor und gibt einen Zählimpuls an den Bahnenzähler. Solange die vorgewählte Bahnenzahl - ermittelt durch Vergleich Bahnenzähler und entsprechende Vorwahl - nicht erreicht ist, wird anschließend in x-Richtung die nächste Bahn angefahren.

Die Steuerimpulse gelangen jetzt über das x-Tor zum x-Motor und zum x-Zähler, der, wiederum über Vorwahlschalter, die Schritte bis zur nächsten Bahn mitzählt. Ist die eingestellte Zahl erreicht, wird der Zähler auf Null zurückgesetzt, das x-Tor gesperrt und das y-Tor zur Abtastung der nächsten Bahn wieder geöffnet. Durch einen weiteren Vor/Rück-Zähler werden die Gesamtschritte der x-Richtung gezählt, um, nach Arbeiten der letzten Bahn, wieder an den Ausgangspunkt zurückzufinden. Hier stoppt das System und ist bereit zur Abtastung der nächsten DC-Platte.

Zusätzlich sind zum manuellen Positionieren Momentschalter vorgesehen, über die die Impulse unmittelbar den entsprechen-

den Steuerschaltern zugeführt werden.

4.2.4. Beschreibung der Elektronik

Um eine konstante Abtastgeschwindigkeit zu erreichen, muß die Frequenz der Steuerimpulse äußerst stabil sein. Die Erzeugung der Rechteckschwingung übernimmt wiederum ein 10 MHz-Quarzoszillator. Eine Teilerkette von 5 x SN 7490 teilt die Frequenz auf die Arbeitsfrequenz von 100 Hz herunter. Diese richtet sich nach den verwendeten Schrittmotoren. Sie muß so gewählt werden, daß durch Resonanzen innerhalb des Rotor-Stator-Systems keine Schrittfehler auftreten und der Motor außerdem exakt läuft. Die Quarzzeitbasis wurde in der 10 Hz-Version bereits beim Zeiss-Steuersystem erläutert.

Die 100 Hz Rechteckimpulse gelangen über ein Zähltor (1/2 SN 7413) sowohl an den Eingang des V/R-Zählers, als auch über eine Diode an den Steuerschalter des γ -Motors (γ -Takt). Der V/R-Zähler, bestehend aus 6 x SN 74190, zählt synchron mit den Motorschritten die Impulse mit (Abb. 4.16).

Der Zählerinhalt steht in sechs Dekaden im BCD-Code zur Verfügung. Der dritten bis sechsten Dekade sind je vier Inverter nachgeschaltet (4 x SN 7404), so daß der Zählerausgang jetzt nichtinvertiert und invertiert ansteht ($A\bar{A}$, $B\bar{B}$, $C\bar{C}$, $D\bar{D}$). Als Vorwahl-Schalter wurde der Valvo-Typ M 1248/PV für positive Logik verwendet. Dieser Typ gibt bei Übereinstimmung von Vorwahl und Zählerstand einen positiven Impuls ab. Durch die vier abzufragenden Dekaden stehen somit vier Ausgangsleitungen zur Verfügung, an denen nur dann "H"-Potential anliegt, wenn der eingestellte Zählerstand erreicht ist. Die Ausgänge der ersten und zweiten Dekade werden zwei aus je 4 BC 108 gebildeten NOR-Gattern zugeführt, deren Aus-

gang nur beim Zählerstand Null "H" ist. Die Länge der y-Bahn kann also auf 100 Schritte genau vorgewählt werden. Dies ist durchaus ausreichend, da die Vorwahl ja nur die Lage des Umkehrpunktes bestimmt.

Die sechs Ausgangsleitungen werden nun in einem SN 7430 zusammengefaßt, dessen Ausgang nur dann "L" wird, wenn alle Eingänge "H"-Potential führen. Das nachgeschaltete Flip-Flop kippt daraufhin und ändert sowohl die Motordrehrichtung (Y R/L), als auch die Zählrichtung des V/R-Zählers.

Schalter S 1 befindet sich mit auf der Platine und wird einmalig, je nachdem, ob die Abtriebswelle des verwendeten Getriebes positiven oder negativen Drehsinn gegenüber der Antriebswelle aufweist, eingestellt. S 2 legt die Drehrichtungsleitung entweder auf den Ausgang des Flip-Flops oder auf die Steckverbindung zur Positioniertaste.

Am Umkehrpunkt laufen nun Zähler und Kreuztisch rückwärts, die DC-Bahn wird in sich selbst zurück abgetastet. Zum Erkennen des Zählerstandes "Null" werden die Ausgänge der 3. bis 6. Dekade zusätzlich einem Transistor - NOR - Gatter zugeführt, dessen Ausgang dann "H"-Potential führt (Abb. 4.17). Dieser wird, zusammen mit der Nullerkennung der beiden ersten Dekaden (E, F) auf ein NAND SN 7440 gelegt, dessen Ausgang beim Zählerstand "Null" "L"-Potential trägt. Damit ist die erste Bahn abgearbeitet, und der Bahnenzähler muß um 1 erhöht werden (Punkt G). Über Punkt H wird das y-richtungsbestimmende Flip-Flop in die Ausgangsposition "vorwärts" zurückgestellt (Abb. 4.16).

Gleichzeitig wird mit diesem "L"-Signal das y-Tor geschlossen und über ein weiteres NAND das x-Tor geöffnet. Alle ab jetzt von der Quarzzeitbasis eintreffenden Impulse gelangen hier-

Wie bereits erwähnt, gelangt über Punkt G nach jeder abgearbeiteten Bahn ein negativer Impuls auf den Bahnenzähler (2-stufig), der in der beschriebenen Weise mit Vorwahlschaltern abgefragt wird. Ist die eingestellte Bahnenzahl erreicht, kippt das Flip-Flop und ändert damit sowohl die Zählrichtung des V/R-Zählers, in dem die Gesamtschritte der x-Richtung enthalten sind, als auch die x-Motor-Drehrichtung. Die DC-Platte wird nun in x bis zum Startpunkt zurückbewegt. Während des Rücklaufs ist über M das y-Tor gesperrt.

Steht der V/R-Zähler wieder auf Null, liefert das NAND SN 7430 ein "L", das über Anschluß N dem Start/Stop - Flip-Flop zugeführt wird (Abb. 4.19). LED 1 leuchtet und zeigt "Gesamtstop" an. Punkt O liegt jetzt ebenfalls auf "L" und sperrt damit das x-Tor. Über P erhält der Bahnenzähler "reset".

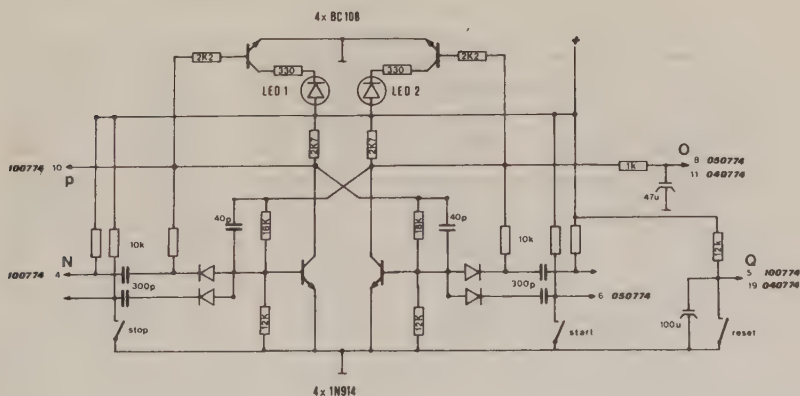


Abb. 4.19 Start/Stop - Flip-Flop

Nach einem erneuten Start am Start/Stop - Flip-Flop steigt Anschluß 0 wegen des vorgeschalteten R/C-Gliedes langsamer an und gibt den Bahnenzähler erst kurze Zeit später frei. Damit wird erreicht, daß dieser nicht bereits beim Start einen Impuls mitzählt; der y-Zähler steht ja zu Beginn auf Null!

Ein weiteres R/C-Glied am "reset"-Drucktaster bewirkt, daß nach Einschalten des Gerätes die Spannung am Q erst langsam ansteigt und so eine definierte Ausgangsposition automatisch hergestellt wird.

Über eine Steckverbindung läßt sich die Positioniertaste anschließen, mit deren Hilfe der Kreutztisch unter Umgehung der gesamten Steuerlogik bewegt werden kann (Abb. 4.20 und 4.16).

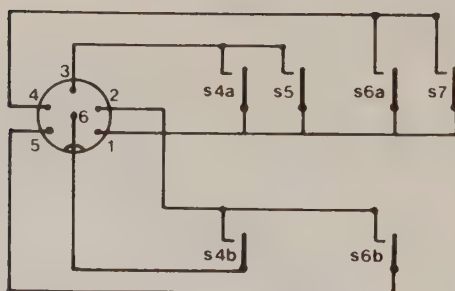


Abb. 4.20 Positioniertaste

Auf die verwendeten Steuerschalter und Kompensationsnetzwerke soll hier nicht näher eingegangen werden, da es sich um kommerzielle Prints handelt, die zwar zum Betrieb von Schrittmotoren unerläßlich sind, aber nichts mit der eigentlichen Problemstellung zu tun haben (Einzelheiten dazu siehe [7]).

4.2.5. Ergebnisse

Am Beispiel einer Dreikomponentenanalyse und Auswertung mit internem Standard wurde das System ausgetestet. Die Ergebnisse sind der folgenden Tabelle zu entnehmen.

Tab. 4.4 Ergebnisse der Dreikomponentenanalyse; Austestung des Systems, Auswertung mit Methylparaban als internem Standard

Acetylsalicylsäure		Acetaminophen (Paracetamol)		Coffein	
100.17	99.99	97.34	102.24	97.87	102.39
101.96	98.98	102.9	99.11	103.22	97.44
99.78	97.70	100.11	93.15	101.65	97.43
102.17	100.38	101.69	99.42	96.72	98.8
97.15	100.97	98.73	102.10	102.43	100.08
100.71	100.57	102.16	103.41	106.26	99.83
97.83	99.26	96.88	98.37	93.95	98.2
102.01	101.11	100.61	98.21	101.91	96.42
99.58	100.43	99.08	99.03	97.10	98.27
$\bar{x}$	= 100.04%	$\bar{x}$	= 99.70%	$\bar{x}$	= 99.44%
σ_{rel}	= 1.45%	σ_{rel}	= 2.55%	σ_{rel}	= 3.05%
(n = 18)		(n = 18)		(n = 18)	

Coffein mit dem höchsten Rf-Wert ergibt insgesamt den größten Fehler, da sich bei dieser Substanz Abweichungen im dünn-schichtchromatographischen Laufverhalten am stärksten bemerkbar machen. Hinzu kommt noch, daß Coffein in geringerer Konzentration vorliegt als die anderen Komponenten, da insgesamt solche Mengenverhältnisse der Einzelkomponenten gewählt werden, wie sie in der Praxis auch real vorliegen.

Bei der Tablettenanalyse (Thomapyrin N[®]; Thomae, Biberach) ergeben sich wegen der zusätzlichen individuellen Fehler der Einzeltablette (Gesamtgewicht, Mischung der Komponenten) höhere Standardabweichungen:

Tab. 4.5 Ergebnisse der Tablettenanalyse (Thomapyrin N[®]; Thomae, Biberach, Charge 4013)

Substanz	Sollwert mg/Tbl.	gefunden mg/Tbl.	δ_{rel} (n = 12)
Acetylsalicylsäure	250	250.6	2.82%
Acetaminophen	200	196.4	4.06%
Coffein	50	48.7	8.10%

4.2.6. Experimentelle Angaben

Substanzen:	Coffein, Acetaminophen, Acetylsalicylsäure, jeweils reinste Handelsqualität; Thomapyrin N [®] - Tabletten, Thomae, Biberach (Charge 4013)
Lösungen:	1 Tablette bzw. Substanzen in gleicher Menge in 50.0 cm ³ Äthanol 96%, evtl. ungelöst bleibende Tablettenhilfsstoffe stören die Bestimmung nicht.
DC-Platten:	Fertigplatten Kieselgel 60 (Merck) ohne Fluoreszenzindikator
Fließmittel:	Aceton / Chloroform / Eisessig (30 + 30 + 1), Entwicklung in thermostatisierten N - Kammern mit Kammer-sättigung
Auftragetechnik:	Microcaps 0.5 mm ³ (Drummond Scientific, Vertrieb Shandon Labortechnik, Frankfurt)
Gerätekombination:	DC-Spektralfotometer Schoeffel SD-3000 (Umbauvariante), Scansteuerung, Integrator Infotronics CRS 104, Rechner Diehl Combitron S.
Meßwellenlänge:	275 nm

4.3. Fehlerfortpflanzung

Vergleicht man verschiedene Auswertungsverfahren bezüglich ihrer Fehlermöglichkeiten und der Fehlerfortpflanzung (Tab. 4.6) bei der Auswertung, so ergibt sich der geringste Fehler bei der Peakhöhe als konzentrationsproportionale Meßgröße. Es gilt als allgemeiner Ansatz die Gauß'sche Fehlerfortpflanzungsgleichung:

$$\sigma_{f(p,q)}^2 = \left(\frac{\partial f}{\partial q}\right)^2 \cdot \sigma_q^2 + \left(\frac{\partial f}{\partial p}\right)^2 \cdot \sigma_p^2$$

Auswertungs- verfahren	Standardfehler	relat. Fehler [%] mit $\sigma = \sigma_b = \sigma_h$
$c \propto h$	$\sigma_c^2 = \sigma_h^2$	$\sigma_{rel,h} = \frac{\sigma}{h} \cdot 100$
$c \propto h \cdot b$	$\sigma_c^2 = b^2 \cdot \sigma_h^2 + h^2 \cdot \sigma_b^2$	$\sigma_{rel,F} = \frac{\sigma \cdot \sqrt{h^2 + b^2} \cdot 100}{h \cdot b} > \underline{\underline{\sigma_{rel,h}}}$
$c \propto (h \cdot b)^2$	$\sigma_c^2 = 4h^2 b^2 \sigma_h^2 + 4b^2 h^2 \sigma_b^2$	$\sigma_{rel,F^2} = \frac{2hb\sigma \sqrt{h^2 + b^2} \cdot 100}{(h \cdot b)^2} = \underline{\underline{2\sigma_{rel,F}}}$

Tab. 4.6

Vorstehende Tabelle gilt selbstverständlich nur, wenn die aufgeführten Verfahren ausschließlich dort eingesetzt werden, wo ihr Ansatz Gültigkeit besitzt.

4.3.1. Fehlermöglichkeiten bei der elektronischen Integration

4.3.1.1. Fehler durch Basislinienversatz

Wie schon oben erwähnt, zeigen sich häufig Unterschiede zwischen der Basislinie vor und hinter dem Fleck (Abb.4.21).

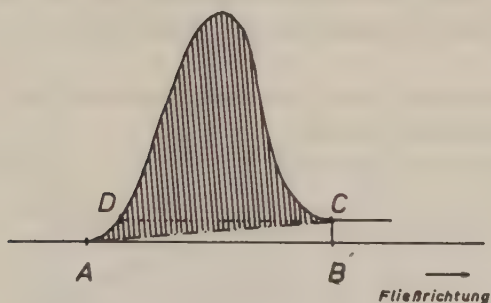


Abb. 4.21 Integrationsverlauf bei Vor- und Rückscan

Beim Scan in Fließrichtung integriert der Integrator von A nach C über seiner Grundlinie $\overline{AB}$. Damit ist die gefundene Fläche um das Dreieck ABC zu groß. Gegen Fließrichtung beginnt der Integrationsprozeß bei C und endet bei D. Die gefundene Fläche ist jetzt um ACD zu klein. Es wurde schon darauf hingewiesen, daß durch Mittelwertbildung beider Scans die wahre Fläche gut angenähert werden kann.

4.3.1.2. Fehler durch Zeitkonstanten

Andere Integrationsfehler, die sich durch Abflachung und Verzerrung der Peaks bemerkbar machen, entstehen durch Zeitkonstanten im Integrator. Zur Unterdrückung des Rauschanteils werden Tiefpaßfilter eingesetzt, deren Zeitkonstanten in der Größenordnung zwischen 100 ms und 1000 ms betragen. Daraus ergeben sich Grenzfrequenzen von etwa 0,15 Hz bis 1,5 Hz und darüber. Bei der Grenzfrequenz beträgt die Amplitude nur noch das 0,7-fache des Eingangssignals. Dies läßt eine klare Abhängigkeit zwischen Scangeschwindigkeit und erhaltenem Integrationswert erkennen. In der Tab. 4.7 sind die dabei auftretenden Fehler zusammengestellt.

Tab. 4.7 Abhängigkeit des Integrationswertes von der Scangeschwindigkeit

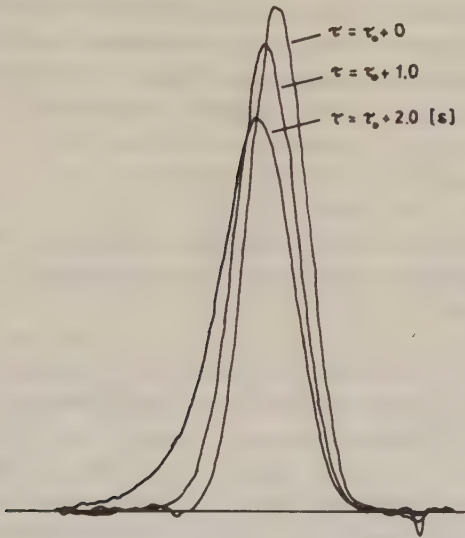
v mm/min	c =	0.5	1.0	2.0 µg
10	F	104.70	230.58	490.81
	δ	0.40%	0.36%	0.30%
	ψ	-	-	-
20	F	52.14	114.89	244.53
	δ	0.35%	0.43%	0.36%
	ψ	- 0.40%	- 0.35%	- 0.36%
40	F	25.84	56.29	122.01
	δ	0.41%	0.34%	0.28%
	ψ	- 1.29%	- 2.35%	- 0.57%
80	F	12.44	26.99	58.09
	δ	0.67%	0.27%	0.22%
	ψ	- 4.96%	- 6.03%	- 5.31%

Coffein 275 nm

Shimadzu CS 900 / Infotronics CRS 104

Der direkte Einfluß der Zeitkonstanten läßt sich anhand folgender Versuchsanordnung deutlich zeigen:

Zwischen Fotometerausgang und Schreiber wird ein Meßverstärker geschaltet, der es gestattet, Tiefpaßfilter mit unterschiedlichen Zeitkonstanten zwischenzuschalten. Bei gleicher Scangeschwindigkeit ergeben sich für denselben Fleck bei unterschiedlichen Zeitkonstanten folgende Peaks (Abb. 4.22):



Sudanrot 250 ng
Shimadzu CS 900
515/615 nm

Abb. 4.22 Fehler durch Zeitkonstanten

τ_0 bedeutet hierbei die eigene Zeitkonstante des gesamten Meßsystems.

5. Vollautomatische rechnergesteuerte
quantitative Auswertung von Dünnschicht-
chromatogrammen

5.1. Datenerfassung und Rechnerrücksteuerung

Alle bisher beschriebenen Systeme, auch die z.Zt. in der Industrie verwendeten DC/Rechner-Kopplungen, führen ein selbständiges feststehendes Programm aus. Die Steuerung des Fotometers wird von einer eigens hierfür konstruierten, mehr oder weniger aufwendigen Elektronik übernommen, der Rechner dient lediglich der Erfassung aller dabei anfallenden Daten und natürlich der problembedingten Auswertung. Es gibt bis heute kein System, bei dem der Rechner aktiv in den Steuerzyklus eingreift.

Eine logische Fortführung der bisher vorgestellten automatischen Scansteuerung stellt die vollautomatisch arbeitende Rechnersteuerung dar.

5.1.1. Anforderungen an ein vollständig rechnergesteuertes DC-System

Wie die Ergebnisse der zeitanalogen und der volldigitalen Scansteuerung zeigen, scheint es zum Erreichen maximal möglicher Genauigkeit unerlässlich, vor der Messung (Registrierung, Integration, Peakhöhe ..) jeden einzelnen Fleck optimal nachzujustieren. Bei einem auf acht Bahnen aufgetragenen Fünfkomponentengemisch sind somit vierzig Flecke einzeln zu positionieren. Abgesehen davon, daß die Konzentrationsfähigkeit einer Laborantin nach spätestens der fünften Platte (= dem 200. Fleck) rapide abnimmt, wird auch der Analysendurchsatz pro Tag, wenn sie nebenbei noch weitere

DC-Platten auftragen und entwickeln soll, sehr gering sein.

Eine Rechnerkopplung, bei der der Rechner aktiv das Fotometer steuert, sich also jeden einzelnen Fleck sucht, optimal positioniert, den Meßwert, unter Beachtung der Zuordnung von Eich- und Analysenflecken, übernimmt und anschließend die Auswertung ausdruckt, kann hier zu einer erheblichen Zeitersparnis und einem nicht zu unterschätzenden Genauigkeitsgewinn, wie im folgenden die Ergebnisse zeigen werden, führen. Die manuelle Tätigkeit ist damit auf das Auftragen und Entwickeln der DC-Platten, sowie das Einlegen der Platten ins Fotometer beschränkt.

Ein solches rechnergesteuertes DC-System arbeitet bei uns seit 1 1/2 Jahren. Der tägliche Analysendurchsatz ließ sich damit, was gerade bei Reihenuntersuchungen wichtig ist, je nach Komponentenzahl um etwa das 5-fache steigern.

Als Prozeßrechner wird ein Tischrechner (z.B. Hewlett-Packard 9810 oder 9830) in Kombination mit dem Zweistrahl-Fotometer SD 3000 von Schoeffel verwendet. Letzteres in der bereits beschriebenen Umbauversion, d.h., über Schrittmotore wird der Plattentisch in x- und y-Richtung bewegt. Die jeweiligen Meßwerte erhält der Rechner über ein Digitalvoltmeter, dem, anstelle des sonst üblichen Schreibers, das Ausgangssignal des Fotometers zugeführt wird.

Damit ergibt sich folgende Gerätekombination (Abb. 5.1):

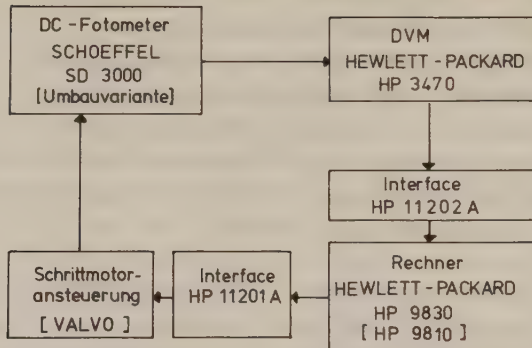


Abb. 5.1 Gerätekombination

Wie schon oben näher erläutert, werden Schrittmotore durch Rechteckimpulse angesteuert und ihre Drehrichtung durch den logischen Pegel am Richtungseingang des Steuerschalters festgesetzt. Mit Hilfe des I/O - Interfaces 11201 A (= input/output) ist es möglich, Daten in den Rechner einzulesen, wie auch umgekehrt, Daten oder Text aus dem Rechner auszulesen. Letzteres ist für die Steuerung entscheidend. Die Datenein- und -ausgabe erfolgt im 8-Kanal ASCII - Code (American Standard Code for Information Interchange).

Damit sollte es möglich sein, durch ein geeignetes output-statement den Pegel am Richtungseingang des Motorsteuer-

schalters festzulegen, um danach, durch eine weitere Anweisung, den Motor in der vorgewählten Richtung um einen Schritt weiterlaufen zu lassen. Da sich ein Einzelschritt beim Transport des Plattentisches durch die hohe Getriebeuntersetzung kaum bemerkbar macht, läßt man den Rechner zweckmäßigerweise über eine Laufanweisung ein "Schrittpaket" ausgeben, wobei die Schrittzahl von der Software festgelegt wird. Für die getrennte Steuerung zweier Motore sind also sechs Befehle notwendig:

1. x - vorwärts
2. x - rückwärts
3. x - Takt
4. y - vorwärts
5. y - rückwärts
6. y - Takt

5.1.2. Elektronischer Teil

Als eindeutige Steuerbefehle würden sich nun diejenigen Zeichen eignen, die jeweils eine und nur eine der acht Ausgangsleitungen aktivieren. Diese Lösung, so einfach sie auch scheinen mag, ist aber äußerst unbefriedigend, da die output-Kapazität des Rechners dadurch keineswegs ausgenutzt wird. Außerdem ergeben sich Schwierigkeiten durch die Kommandos "carriage return" und "line feed", die am Ende eines jeden output-Befehles automatisch vom Rechner mit ausgegeben werden und damit zu Fehlinterpretationen führen.

Eleganter ist dagegen eine Decodierung des ASCII-Codes. Mit sieben Datenleitungen - die achte stellt das parity bit dar - ergäben sich theoretisch ($2^7 - 1$) Möglichkeiten.

Betrachtet man das ASCII - Bitmuster der Ziffern 0 - 9 [8], so stimmen die ersten vier bits mit denen des BCD-Codes überein. Decodiert man diese nun dezimal, so erhält man durch vier Steuerleitungen 10 unterschiedliche Befehle. Durch die ausschließliche Verwendung von Ziffern als Steuerzeichen gestaltet sich zudem das Rechenprogramm etwas übersichtlicher. Fehlinterpretationen durch CR und LF sind ausgeschlossen, da der verwendete BCD/Dezimal-Decoder SN 7442 die Äquivalente 10 und 13 (für CR und LF) nicht kennt. Dieser Decoder arbeitet mit positiver Logik, d.h. $H \hat{=} ca + 5V$, $0 \hat{=} ca + 0,8V$, der Rechner dagegen mit negativer Logik. Die Signalpegel müssen also vor der Decodierung invertiert werden. Dies geschieht mittels 2/3 SN 7404. Die Eingänge der Inverterstufen werden über Widerstände hochgelegt, um ein sicheres H - Potential zu erzielen (Rechnerausgang = offener Kollektor). Am BCD/Dezimal - Decoder stehen nun 10 Ausgänge, ebenfalls mit offenem Kollektor, zur Verfügung, die beliebige Funktionen erfüllen können.

Im vorangegangenen Teil wurde die Schrittmotorsteuerung mittels auf Steckkarten aufgebauter kommerzieller Steuer-schalter beschrieben. Mit fortschreitender Entwicklung auf dem Gebiet der integrierten Schaltungstechnik hat VALVO [7] einen neuen IC auf den Markt gebracht, der im 16 pin Dual-in-line Gehäuse alle Komponenten der früheren Steckkarten enthält. Mit diesem Baustein SAA 1027 ist es möglich, Schrittmotore ohne Zwischenschaltung von Leistungsstufen oder Kompensationsnetzwerken direkt anzusteuern. Dies vermindert nicht nur die Komplexität, sondern auch ganz erheblich die Kosten von Schrittmotorsystemen.

Der Baustein arbeitet mit einer Betriebsspannung von 12 V, sein Logikpegel liegt für $H \geq 7,5 V$, $L \leq 4,5 V$. Durch Zwi-

schenschaltung von Transistoren kann ohne weiteres von TTL-Logik hierauf transformiert werden.

Der Taktimpuls gelangt vom Ausgang Q 1 des SN 7442 über einen Transistor, der sowohl invertiert, als auch den nötigen Pegel erzeugt, und einen Umschalter, mit dem die Betriebsart "Rechner" oder "manuell" gewählt werden kann, auf den Takteingang des SAA 1027. Q 2 und Q 3 sprechen ein Transistor-Flip-Flop an, das über den Richtungseingang des SAA 1027 die Drehrichtung des Motors bestimmt.

Steht der Betriebsartenschalter auf "manuell", wird ein von einem Generator ICL 8083 erzeugtes Rechtecksignal über Dr 1 oder Dr 2 dem Takteingang zugeführt, während Dr 2 die Drehrichtung bestimmt. Außerdem ist die Frequenz des Rechtecksignals einstellbar, so daß mit Hilfe der Drucktaster der Plattentisch sehr genau positioniert werden kann. Die folgende Abbildung (Abb. 5.2) zeigt das Gesamtschaltbild zur Steuerung eines Schrittmotors. Der rechts der gestrichelten Linie gezeichnete Teil ist zweimal erforderlich (x - und y-Antrieb). Die zweite Baugruppe wird dann über Q 4, Q 5, Q 6 gesteuert.

In BASIC lauten die Steuerbefehle für den x-Motor (HP 9830-Steuerprogramm):

- OUTPUT (select code, *) 2 alle folgenden Schritte werden
in der Drehrichtung "rechts" ausgeführt
- OUTPUT (select code, *) 3 alle folgenden Schritte werden
in der Drehrichtung "links" ausgeführt
- OUTPUT (select code, *) 1 Motor macht einen Schritt in der
vorgewählten Richtung

Die Steuerziffern 4, 5 und 6 sprechen in gleicher Weise den y-Motor an.

5.1.3. Flecksuche und Abtastung

Im Steuerprogramm sind folgende Parameter frei wählbar:

Abstand der ersten DC-Bahn vom Plattenrand
Abstand der Bahnen untereinander
Auflösung y-grob (ca. 80 - 100 Schritte/Paket)
Auflösung y-fein (ca. 6 - 10 Schritte/Paket)
Auflösung x (ca. 3 - 5 Schritte/Paket)
Zahl der Bahnen
Zahl der Flecken pro Bahn
Lage des internen Standards
maximale Bahnlänge
minimale Peakschwelle

Nach Einlegen der Platte in das Fotometer und Starten des Rechenprogramms fährt der Kreutztisch soweit vor, bis die erste Bahn unter dem Meßspalt zu liegen kommt. Das Rechen-

programm stoppt hier und gibt Gelegenheit zum Einstellen des Meßverstärkers, der Wellenlänge und des Bahnanfangs irgendwo zwischen Startlinie und erstem Fleck. Nach Weiterlauf wird jetzt die erste Bahn mit grober Auflösung (ca. 80 - 100 Schritte $\hat{=}$ 1 mm Weg) abgescannt (a). Jeweils nach Ausgabe eines solchen Schrittpaketes werden über das angeschlossene Digitalvoltmeter drei oder mehr Meßwerte in den Rechner eingelesen, der über Mittelwertbildung eine Signalglättung vornimmt und außerdem durch die Akkomodationszeit des DVM's statistisches Rauschen eliminiert. Zeigen mehr als drei dieser Mittelwerte nacheinander aufsteigende Tendenz, signalisiert der Rechner "Peakanfang" und schaltet auf feine Auflösung (ca 0,1 mm) um (b); (Abb. 5.3).

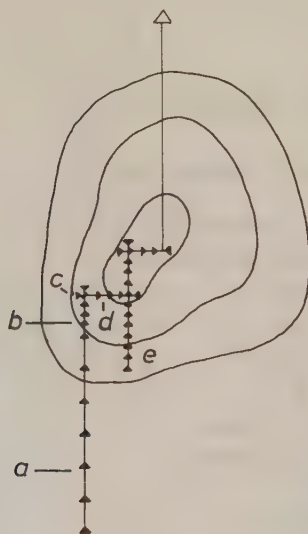


Abb. 5.3 Bewegungsablauf bei der Fleckpositionierung

Der Kreutztisch wird nun solange weiterbewegt, bis wieder ein fallender Wert zu erkennen ist. Es ist nun ein vorläufiges Maximum überschritten worden. Das letzte Schritt-paket wird daraufhin unter Berücksichtigung des Getriebe-spieles rückwärts ausgeführt, so daß der Meßspalt genau auf diesem ersten Maximum steht. Nunmehr erfolgt ein Tisch-vorschub in x-Richtung (c). Nehmen die Werte weiterhin ab, so war die Richtung falsch gewählt und wird umgekehrt. Der Rechner registriert jetzt wieder steigende Werte (d), so-lange bis ein weiteres vorläufiges Maximum überschritten wird. Um Unsymmetrien der Flecke zu begegnen, wird diese Positionierung wiederholt, indem in y-Richtung auf die an-steigende Peakflanke zurückgefahren wird (e), und der Fleck neu mit feiner Auflösung in der beschriebenen Weise posi-tioniert wird.

Der hierbei gefundene Maximalwert wird mit einer minimalen Peakschwelle verglichen und bei Überschreitung als Peak-maximum abgespeichert.

Der Kreutztisch fährt nun mit grober Auflösung weiter bis zum nächsten Fleck, wo sich die ganze Prozedur wiederholt. Zur Auswertung wird für jede Bahn noch das Minimum abge-speichert. Ist die maximale Anzahl der auf einer Bahn zu suchenden Flecke erreicht, wird in y bis zum Startpunkt zurückgefahren und anschließend in x die nächste Bahn aufge-sucht. Nach der letzten Bahn wird der Plattentisch an den Ausgangspunkt zurückgefahren, und das System ist bereit zum Abtasten der nächsten Platte.

5.2. Rechenprogramm

5.2.1. Flußdiagramm zur Densitometersteuerung (SD 3000) mit Tischrechner (z.B.: HP 9810)

Auf den folgenden Seiten wird das Steuerprogramm für den HP 9810 anhand des Flußdiagrammes erläutert. Es ist prinzipiell möglich, das Programm auf andere Rechnertypen zu übertragen.

Hier zunächst eine Zusammenfassung der verwendeten Variablen:

RS	Peakschwelle
DR	Abstand der ersten Bahn vom Plattenrand
DX	Abstand der Bahnen untereinander
NB	Zahl der Bahnen
$\overline{NB}$	Bahn-Nr.
NP	Zahl der Peaks pro Bahn
$\overline{NP}$	Peak-Nr.
AY	Auflösung y (grob)
$\overline{AY}$	Auflösung y (fein)
$\overline{AX}$	Auflösung x
NY	maximale Bahnlänge y
$\overline{NY}$	gegenwärtige y-Position
$\overline{NX}$	gegenwärtige x-Position
R MIN	Remissionsminimum
R MAX	Remissionsmaximum
R'MAX	vorläufiges Remissionsmaximum
R (N-1)	vorletzter Remissionswert
R (N)	letzter Remissionswert
S	Steigungsvariable zur Peakerkennung
K	Unterscheidung zwischen Eich- und Analysenbahn

Ein Unterprogramm, das mit einer bestimmten Schrittzahl J angesprungen wird, bewirkt jedesmal den Vor- bzw. Rücklauf in x oder y . Zuerst wird der gegenwärtige Standort $\overline{NX}$ oder $\overline{NY}$ entsprechend der gewünschten Bewegungsrichtung um J Schritte korrigiert, dann erfolgt in einer Laufanweisung die Ausgabe von J Schritimpulsen. Daran schließt sich die Meßwertübernahme vom Digitalvoltmeter in der bereits beschriebenen Weise an (Abb. 5.4).

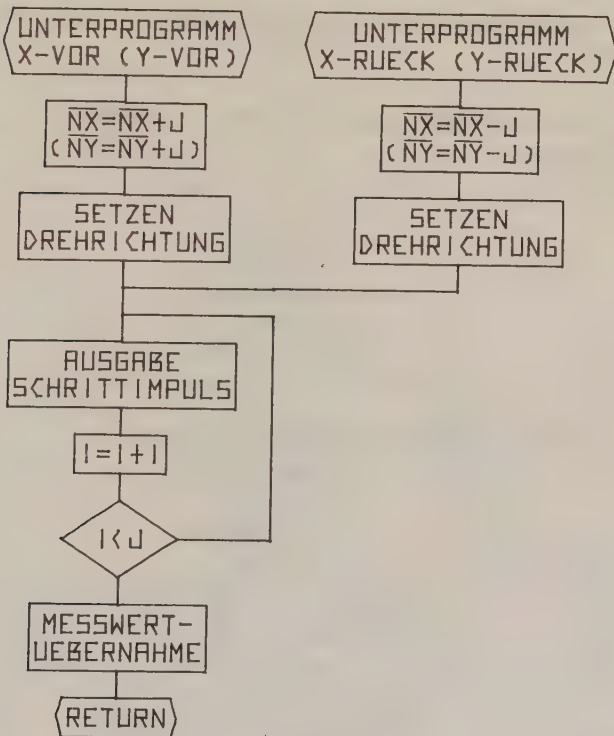


Abb. 5.4

Das Hauptprogramm startet mit dem Vorlauf in x um DR Schritte. Dazu wird das Unterprogramm x-vor mit DR Schritimpulsen angesprungen. Der Plattentisch ist jetzt bis zur ersten Bahn vorgefahren. Hier stoppt das Programm und gibt dem Benutzer Gelegenheit, die Einstellungen von Verstärker, Wellenlänge usw. zu korrigieren (Abb. 5.5). Es erfolgt dann ein Schritt in x, um anschließend gleich den ersten Meßwert auf fleckfreiem Untergrund übernehmen zu können. R MIN erhält vorläufig den Wert 1, R MAX -1; sie werden im Programm laufend korrigiert. Bahn-Nr. und Peak-Nr. werden auf 1 bzw. auf $\emptyset$ gesetzt, K wird 1, d.h. es handelt sich um eine Eichbahn. Entsprechend der Startposition erhalten x und y den Wert $\emptyset$.

Nach dieser Vorbereitung setzt das Programm mit dem Programmteil 2 fort.

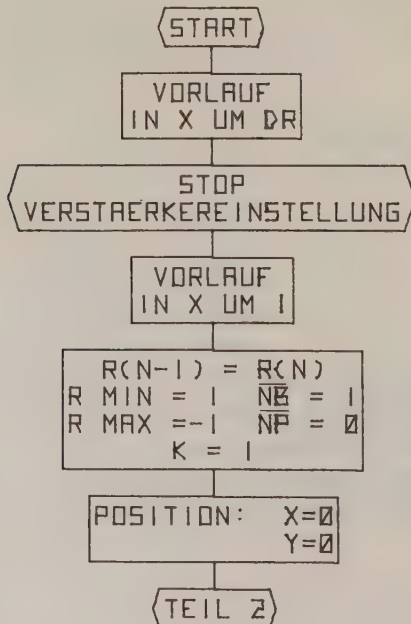


Abb. 5.5

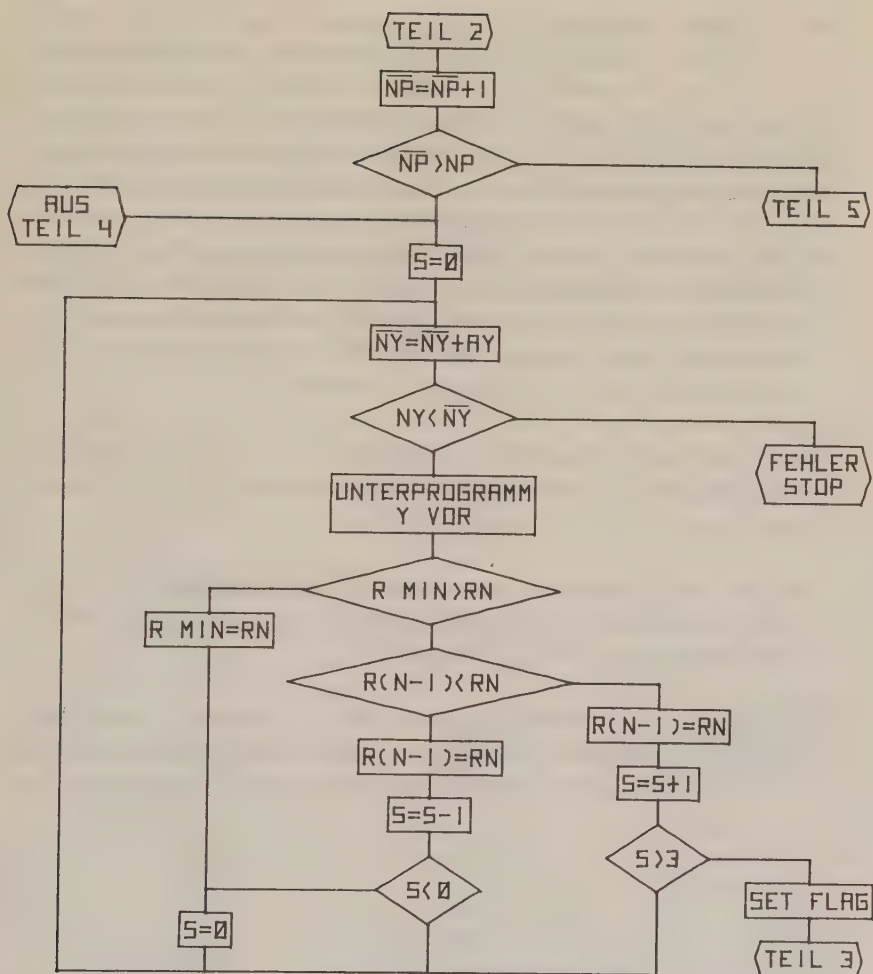


Abb. 5.6

Teil 2 - Peakerkennung mit grober Auflösung (Abb. 5.6)

Die laufende Peak-Nr. wird um 1 erhöht. Überschreitet sie die maximale Peakzahl, fährt das Programm mit Teil 5 fort.

Im anderen Fall erhält die Steigungsvariable S den Wert $\emptyset$ und es erfolgt ein Vorschub in y um AY Schritte. Ist der neue Meßwert kleiner als das bisherige Minimum, so wird dieses korrigiert. Ist er außerdem größer als der vorletzte Wert R (N - 1), so wird S um 1 erhöht und geprüft, ob die geforderte 3 bereits überschritten ist, d.h. mehr als 3 Werte aufeinanderfolgend größer wurden. In diesem Falle wird vom Rechner eine "Flagge" gesetzt und im Programmteil 3 fortgefahren, der Peakanfang ist erkannt.

Hat S den Wert 3 noch nicht erreicht, erfolgt wiederum ein y-Vorschub um AY Schritte mit anschließender neuer Meßwertübernahme.

Ist der neue Meßwert kleiner als der vorangegangene, wird S um 1 erniedrigt, wobei S nie kleiner als $\emptyset$ werden soll. Anschließend wie oben y-vor um AY.

Sollte bei der Flecksuche irgendwann die maximal zulässige Bahnlänge überschritten werden, hält das Rechenprogramm an, um Beschädigungen am mechanischen Antrieb zu vermeiden.

Teil 3 - Fleckpositionierung in y mit feiner Auflösung
(Abb. 5.7)

Nachdem über die Steigungsvariable S nun der Peakanfang gefunden wurde, sucht Teil 3 in y-Richtung ein erstes vorläufiges Remissionsmaximum. Dieses R'MAX erhält anfangs den Wert -1, dann erfolgt der Vorlauf in y, diesmal um $\overline{AY}$ Schritte. Der neu eingelesene Meßwert RN wird jetzt mit R'MAX verglichen. Solange die neuen Meßwerte ansteigen, wird auch weiterhin um $\overline{AY}$ vorgefahren. Erst bei kleiner werdenden RN ist das erste Maximum überschritten, und zwar genau um $\overline{AY}$ Schritte; es muß nun in der x-Richtung nachpositioniert werden. Das Programm setzt mit Teil 4 fort.

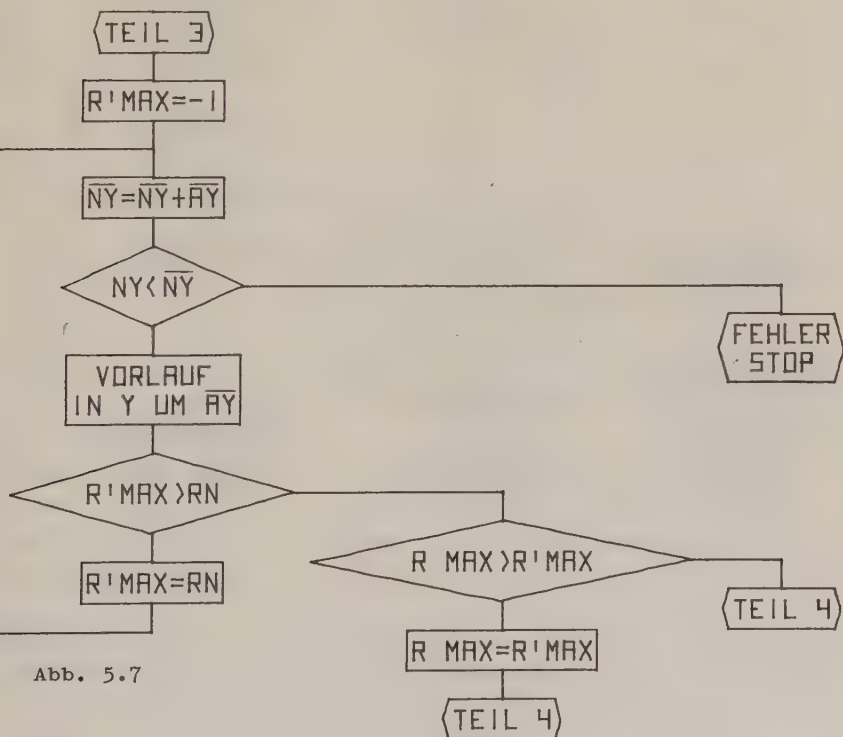


Abb. 5.7

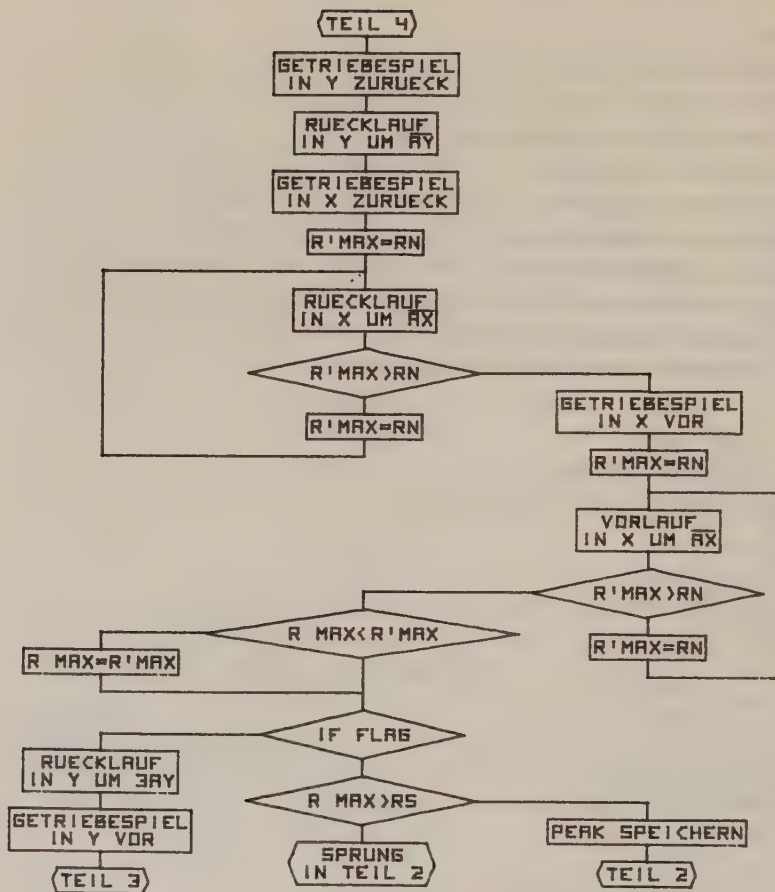


Abb. 5.8

Teil 4 - Fleckpositionierung in x (Abb. 5.8)

Im Teil 3 ist der Kreutztisch bei der Maximumsuche genau um $\overline{AY}$ Schritte zu weit gefahren. Er muß also um dieses Schrittpaket zurückgesetzt werden. Da hierzu eine Bewegungsumkehr erforderlich ist, muß erst das Getriebeispiel beseitigt werden, ehe das eigentliche Schrittpaket ausgeführt wird. Das Getriebeispiel in x oder y wird einmalig experimentell ermittelt und die erforderliche Schrittzahl in einem Datenspeicher des Rechners abgelegt. Der Meßspalt zeigt jetzt genau auf das zuerst gefundene Maximum, die Positionierung in x kann beginnen.

Dazu wird der Plattentisch um $\overline{AX}$ Schritte in x-Richtung zurückbewegt und der neue Meßwert mit dem bisherigen Maximum $R'MAX$ verglichen. Ist er größer, so war die Richtung richtig gewählt und wird für die weiteren Schritte beibehalten. Im anderen Fall muß zunächst das x-Getriebeispiel beseitigt werden, ehe ein Vorlauf um $\overline{AX}$ erfolgt.

Erweist sich diese Richtung als korrekt, d.h. steigen die Werte weiterhin an, wird der x-Vorlauf solange beibehalten, bis ein Meßwert wieder kleiner geworden ist. Damit ist ein zweites vorläufiges Maximum gefunden. Es wird mit dem zuerst gefundenen verglichen, und der Rechner behält das höhere von beiden als Maximum im ersten Durchlauf.

Wenn die vor dem ersten Durchgang gesetzte "Flagge" noch steht, löscht sie der Rechner und bewegt den Plattentisch um $3 AY$ in y-Richtung zurück, so daß jetzt wiederum die aufsteigende Peakflanke unter der Meßoptik zu liegen kommt.

Nach Beseitigung des y-Getriebebeispieles wird alles ab Programmteil 3 wiederholt, d.h. der Fleck wird nochmals posi-

tioniert. Dies hat sich als zweckmäßig erwiesen, da bei unsymmetrischer Fleckform das erste Maximum noch nicht das absolute darstellen muß.

Gelangt der Rechner dann im zweiten Durchlauf wieder an die Abfrage bezüglich des Flaggenstatus, läuft er im Programm weiter, da die Flagge ja im ersten Durchgang gelöscht wurde.

Überschreitet das Peakmaximum eine sicherheitshalber eingebaute Peakschwelle, wird es gespeichert, und der Rechner springt im Programm nach Teil 2, um den nächsten Fleck in der beschriebenen Art und Weise zu suchen und zu positionieren.

Bei Unsauberkeiten auf der DC-Platte kann es jedoch vorkommen, daß der Rechner ein Maximum positioniert, das nicht von einem DC-Fleck herrührt. Die hierdurch hervorgerufenen Meßwerte liegen jedoch weit unter denen echter Peaks, so daß mit Hilfe eines Schwellenwertes klar unterschieden werden kann.

In einem solchen Fall "vergißt" der Rechner das gefundene Remissionsmaximum, springt in Teil 2 und sucht, ohne den Peakzähler noch einmal zu erhöhen, den nächsten Fleck.

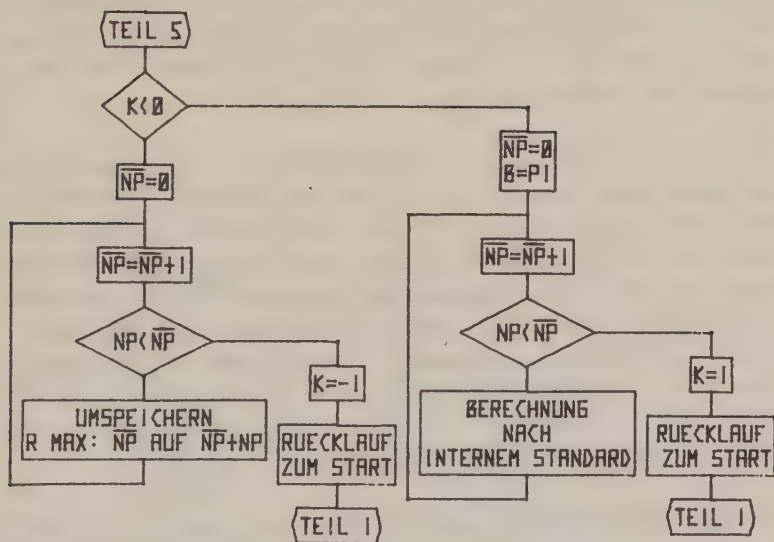


Abb. 5.9

Teil 5 - Auswertung und Rücklauf (Abb. 5.9)

Sind alle Peaks einer Bahn gefunden, setzt das Programm mit Teil 5 fort. Bei der ersten auszuwertenden Bahn handelt es sich um eine Eichbahn: $K = 1$. Alle auf dieser Bahn gefundenen Maxima werden jetzt umgespeichert, so daß die bisherigen Plätze zur Aufnahme der Daten der folgenden Analysenbahn frei sind. Die logische Variable K wird jetzt -1 und über das Unterprogramm y -rück, in das mit der derzeitigen y -Position hineingesprungen wird, erfolgt der Rücklauf zur y -Position $\emptyset$. Teil 1 übernimmt dann den Vorlauf zur nächsten Bahn.

Ist der Rechner mit der Abtastung einer Analysenbahn fertig, verzweigt das Programm in Teil 5, da $K < \emptyset$ und es erfolgt, unter Zuhilfenahme von $R \text{ MIN}$ als Basislinie, die Berechnung über den internen Standard. Auf diese Berechnung wurde bereits weiter vorne eingegangen, außerdem ist sie in diesem Zusammenhang von zweitrangiger Bedeutung, da prinzipiell auch andere Auswertungen möglich sind. Nach der Auswertung wird das Programm mit $K = 1$ im Teil 1 fortgesetzt.

Teil 1 - Bahnansteuerung (Abb. 5.10)

Nach Abarbeiten der ersten Bahn wird der Bahnenzähler $\overline{NB}$ um 1 erhöht und mit der maximalen Bahnenzahl verglichen. Solange sie kleiner ist, erfolgt über das Unterprogramm x -vor Vorlauf in x um DX bis zur nächsten Bahn, außerdem werden, wie zu Beginn, $R \text{ MIN}$, $R \text{ MAX}$, $\overline{NP}$ und $R(N-1)$ korrigiert. Teil 2 startet dann zur Abtastung der nächsten Bahn.

Sind alle Bahnen abgearbeitet, wird der Plattentisch bis zur ersten Bahn zurückgefahren. Hier stoppt das Programm

und gibt dem Benutzer die Gelegenheit, die Lichtschutzhaube des SD 3000 zu öffnen, da der Plattentisch sonst anstoßen und den Motor blockieren würde. Nach Weiterlauf im Programm wird die Platte ganz herausgefahren und kann gegen die nächste ausgetauscht werden.

Mit geringfügigen Unterschieden wurde dieses Programm auch auf den in BASIC programmierbaren Tischrechner HP 9830 übertragen. Durch die weitaus höhere Speicherkapazität (6 K) ließ sich das Programm komfortabler gestalten.

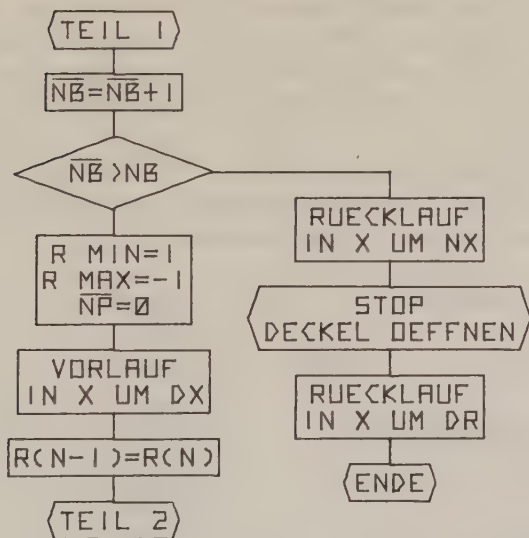


Abb. 5.10

So werden hier die DC-Bahnen mäanderförmig abgescannt, also die erste in Entwicklungsrichtung, die zweite gegen Entwicklungsrichtung usw. Hierbei kehren sich alle Bewegungsabläufe um, so daß dadurch das Programm aufwendiger wird und die Kapazität des HP 9810 überschreitet.

Obwohl das 9810-Programm nach jeder Bahn den an sich unnötigen Rücklauf zur Startlinie durchführt, ist es wegen der höheren Rechengeschwindigkeit zeitlich dem 9830-Programm überlegen.

5.2.2. Auswertung der Daten

Meßwert im vorliegenden Programm ist die Peakhöhe, die Auswertung erfolgt nach der Methode des internen Standards, wobei Eich- und Analysenbahn alternierend aufgetragen wurden. Die Analyse wird sofort auf dem eingebauten Thermodrucker ausgedruckt.

Der Kontrollstreifen enthält folgende Angaben (Dreikomponentengemisch, Standard = Komponente 2):

Bahn-Nr. (Eichbahn)	1.00000
Meßwerte	0.01630
	0.01708
	0.02005
Bahn-Nr. (Analysenbahn)	2.00000
Meßwerte	0.01625
	0.01680
	0.01967
Ergebnisse	101.41023% (Komponente 1)
	100.00000% (int. Standard)
	99.47064% (Komponente 3)

Die Reproduzierbarkeit wurde durch wiederholtes Vermessen derselben Platte anhand eines Dreikomponentengemisches zusätzlich Standard ausgetestet. Die Ergebnisse sind in Tab. 5.1 zusammengefaßt:

Tab. 5.1 Reproduzierbarkeit durch wiederholtes Vermessen (n = 24) derselben Platte. Dreikomponentenanalyse + int. Standard

		Bahn 2	Bahn 4	Bahn 6	Bahn 8
Coffein	$\bar{x}$ =	101.42%	102.58%	97.52%	101.52%
	σ_{rel} =	0.44%	0.44%	0.28%	0.41%
Acetyl- salicyl- säure	$\bar{x}$ =	101.98%	99.96%	97.98%	103.48%
	σ_{rel} =	0.40%	0.40%	0.26%	0.34%
Phena- cetin	$\bar{x}$ =	99.68%	100.63%	98.96%	100.07%
	σ_{rel} =	0.62%	0.37%	0.51%	0.67%

Über alle Flecke ergibt sich eine mittlere Reproduzierbarkeit von 0.42%.

5.3. Ergebnisse

5.3.1. Rechnergesteuerte Abtastung von "Normal"- DC-Platten

5.3.1.1. Bestimmung von Fenistil[®] in Vibrocil[®]-Nasentropfen

5.3.1.1.1. Durchführung und Ergebnisse

Um die Eignung des Verfahrens als Routinemethode zu testen, wurde in drei Chargen Vibrocil[®]-Nasentropfen (Zyma-Blaes AG, München) das Fenistil[®] nach der Methode des internen Standards bestimmt. Aufgetragen wurde nach zwei verschiedenen Schemen:

1. Eichbahn, Analysenbahn, Eichbahn, ... (4 Analysen pro Platte)
2. Eichbahn, Analysenbahn, Anal., Eich., Anal., Anal., Anal. (6 Analysen pro Platte)

Als interner Standard diente in beiden Fällen Antipyrin.

Tab. 5.2 Bestimmung von Fenistil[®] in Vibrocil[®]-Nasentropfen (Zyma-Blaes AG, München) mit Antipyrin als internem Standard, Charge Nr. 2250, Auftrageschema E, A, E, A ...

Platte 1	Platte 2	Platte 3	Platte 4	Platte 5
97.85	98.66	96.67	99.24	97.44
96.95	100.22	98.98	97.94	96.58
97.31	97.58	97.17	97.49	97.09
96.71	98.31	96.95	95.27	97.34
% vom Sollwert = 100%			$\bar{x}$	= 97.590%
n = 20			σ_{rel}	= 1.122%

Tab. 5.3 Charge Nr. 2250, Auftrageschema E,A,A,A, E,A,A,A

Platte 1	Platte 2	Platte 3	Platte 4	Platte 5
97.49	99.85	98.75	99.13	99.80
97.70	97.81	98.90	99.02	98.49
97.67	98.75	97.80	99.76	98.98
100.61	98.88	97.62	98.93	98.26
100.88	98.18	97.17	98.10	99.53
100.58	97.80	99.10	97.60	98.76
n = 30	$\bar{x} = 98.765\%$	$\sigma_{\text{rel}} = 1.088\%$		

Tab. 5.4 Charge Nr. 2240, Auftrageschema E, A,E, A ...

Platte 1	Platte 2	Platte 3	Platte 4	Platte 5
97.53	98.54	98.11	98.12	100.29
98.11	100.22	99.36	99.81	99.10
98.71	97.80	101.23	97.74	98.47
96.95	93.56	101.09	96.84	97.85
n = 20	$\bar{x} = 98.472\%$	$\sigma_{\text{rel}} = 1.737\%$		

Tab. 5.5 Charge Nr. 2240, Auftrageschema E,A,A,A, E,A,A,A

Platte 1	Platte 2	Platte 3	Platte 4	Platte 5
98.00	100.26	98.20	100.71	100.21
99.10	98.70	100.47	100.78	99.45
100.38	98.85	99.96	100.33	100.14
97.73	98.50	95.26	95.83	96.47
98.81	97.40	92.87	96.26	92.19
97.37	96.13	94.39	96.82	(88.84)
n = 29	$\bar{x} = 98.019\%$	$\sigma_{\text{rel}} = 2.428\%$		

Tab. 5.6 Charge Nr. 2200, Auftrageschema E, A, E, A, ...

Platte 1	Platte 2	Platte 3	Platte 4
105.99	105.48	103.92	103.40
102.72	101.16	102.60	99.31
102.66	102.54	101.95	102.12
102.67	103.83	103.56	102.09
n = 16	$\bar{x} = 102.875\%$	$\sigma_{rel} = 1.531\%$	

Tab. 5.7 Charge Nr. 2200, Auftrageschema E,A,A,A, E,A,A,A

Platte 1	Platte 2	Platte 3	Platte 4
105.36	103.86	102.16	105.65
103.48	105.32	101.55	103.65
105.01	105.30	101.98	102.49
103.63	103.55	102.87	103.35
97.83	102.24	102.30	101.58
94.40	103.38	100.68	99.28
n = 24	$\bar{x} = 102.535\%$	$\sigma_{rel} = 2.510\%$	

5.3.1.1.2. Experimentelle Angaben

- Substanzen: Fenistil[®] (Zyma-Blaes AG, München)
Antipyrin
- Lösungen: Vibrocil[®]-Nasentropfen (Zyma-Blaes AG, München) Charge Nr. 2240, 2250, 2200
- a) int. Standard: 90 mg Antipyrin und 5 ml Aethanol abs. werden in Aqua dest. zu 200 ml gelöst
- b) Eichlösung: 139.3 mg Fenistil[®] werden zu 50 ml Aqua dest. gelöst. 10 ml der Lösung werden mit Aqua dest. auf 100 ml ver-

dünnt. 10 ml dieser Lösung werden mit 5 ml Lösung a) gemischt.

c) Analysenlösung: Vibrocil [®]-Nasentropfen werden mit Lösung a) im Verhältnis 2 : 1 gemischt.

DC-Platten: Fertigplatten Kieselgel 60 (Merck)

Fließmittel: Acetonitril / Aethanol abs. / NH₃ 25%
(30 + 5 + 3) v/v

DC-Bedingungen: Kammersättigung, bei 20°C thermostatisiert
10 cm Laufstrecke, senkrechte Plattenstellung
Entwicklungszeit 20 min.
Trockenzeit 2 Std. bei Kaltluft (Trockenschrank)

Auftragetechnik: Microcaps (Drummond Scientific, Vertrieb Shandon Labortechnik, Frankfurt)
Auftragemenge 5 µl
Nach dem Auftragen wird die Platte 30 min. bei Kaltluft getrocknet.

Gerätekombination: DC-Spektralfotometer SD 3000 (Umbauvariante), Motor-Steuerteil, Rechner HP 9830, Digital-Voltmeter HP 3470, Facit Schreibmaschine

Geräteeinstellung: Betriebsart: "Zweistrahl"
SD 3000 Meßwellenlänge: 254 nm
Spaltlänge: 7 mm
Spaltbreite: 0,5 mm

5.3.1.2. Quantitative Bestimmung der Inhaltstoffe von
EM [®]-Dragees und -Saft (Febena Pharma, Köln)

5.3.1.2.1. Analysenergebnisse

Als weiteres praxisnahes Beispiel wurden die Komponenten von EM [®]-Saft und -Dragees (Dichloralphenazon, Coffein, Papaverin, Ephedrin) nach der Methode des internen Standards bestimmt. Auftrageschema in allen Fällen war E,A,E,A, ... (Tab. 5.8)

5.3.1.2.2. Experimentelle Angaben

Eichlösung:	Ephedrin- HCl	10 mg
	Dichloralphenazon	100 mg
	Coffein	20 mg
	Papaverin-HCl	20 mg
	Phenethylamincitrat	10 mg
	Cornecain (Standard)	10 mg
	auf 5 ml H ₂ O - bidest	
Analysenlösung:	1 EM [®] -Dragee	
	Cornecain	10 mg
	auf 5 ml H ₂ O - bidest	
Auftragevolumen:	0,5 µl (Microcaps)	
Fließmittel:	Acetonitril (zur Rück-	
	standsanalyse)	50 ml
	Amoniak 25%	4 ml
Meßwellenlänge:	280 nm	
Platten:	DC-Fertigplatten Merck	
	Kieselgel 60	

Tab. 5.8 Bestimmung von Dichloralphenazon, Coffein
und Papaverin in EM [®]-Dragees, Charge
Nr. 5501, interner Standard: Cornecain

Platte	Dichloralphenazon	Coffein	Papaverin
1	97.96	98.74	99.22
	98.71	98.74	100.16
	100.72	99.90	99.10
	100.60	100.11	96.89
2	100.10	99.20	100.28
	97.43	95.77	96.92
	92.79	99.57	93.34
	94.21	102.71	96.45
3	99.26	99.74	99.11
	96.27	96.14	93.78
	95.03	106.63	105.43
	94.78	107.37	106.19
4	100.17	101.67	101.52
	99.97	100.60	99.20
	96.56	97.94	94.38
	100.60	100.52	97.51
5	101.13	105.83	103.02
	103.09	99.37	97.28
	97.59	102.12	99.82
	94.33	94.25	94.91
6	98.81	104.79	102.90
	97.38	104.25	99.15
	99.71	104.87	101.62
	98.35	103.34	99.77
$\bar{x}$ =	98.190	101.010	99.084
σ =	2.648	3.451	3.362
σ_{rel} =	2.697%	3.416%	3.393%

Insgesamt ergab Ephedrin durch die sehr geringe Absorption bei der Meßwellenlänge 256 nm sowie durch den niedrigen RF-Wert - Störungen durch am Startfleck zurückgebliebene Begleitstoffe - den größten Fehler.

Stammlösungen:	Ephedrin-HCl	330 mg/100 ml H ₂ O
	Paracetamol	200 mg/100 ml Aethanol
Eichlösung:	Ephedrin-HCl-Lösung	50 ml
	Paracetamol-Lösung	5 ml
Analysenlösung:	EM [®] -Saft	50 ml
	Paracetamol-Lösung	5 ml
Auftragevolumen:	1 µl (Microcaps)	
Meßwellenlänge:	256 nm	
Platten:	DC-Fertigplatten Merck	
	Kieselgel 60	
Fließmittel:	Acetonitril (zur Rück-	
	standsanalyse)	50 ml
	Ammoniak 25%	4 ml

Tab. 5.9 Bestimmung von Ephedrin-HCl [30] aus
EM 1 ^(R)-Saft, interner Standard: Paracetamol

Platte	Charge	Ephedrin-HCl	Platte	Charge	Ephedrin-HCl
1	4501	109.89 102.69 97.16 96.25	4	7404	103.76 93.65 95.72 92.38
2	4501	113.90 102.94 101.79 92.64	5	7404	92.44 91.27 93.13 -
3	4501	97.79 102.34 103.85 -	6	7404	95.05 97.75 95.13 85.05
	$\bar{x}$	= 101.90			94.121
	$\bar{S}$	= 6.081			4.561
	$\bar{S}_{rel}$	= 5.972%			4.845%
7	12405	83.00 87.53 87.60 79.91	10	10503	112.15 112.95 113.37 -
8	12405	70.73 87.47 90.12 79.53	11	10503	109.07 109.35 - 117.48
9	12405	84.01 83.66 87.96 89.41	12	10503	99.57 102.54 102.54 100.36
	$\bar{x}$	= 84.243			107.938
	$\bar{S}$	= 5.503			6.258
	$\bar{S}_{rel}$	= 6.532%			5.797%

5.3.2. Rechnergesteuerte Abtastung von HPTLC*-Platten

Seit kurzem sind wieder DC-Platten auf dem Markt, die durch feinere Körnung sowie gleichmäßigere Korngrößenverteilung bei $1/4$ der bisher üblichen Größe eine weitaus höhere Trennleistung bei auf wenige Minuten reduzierter Entwicklungszeit besitzen. Ein weiterer Vorteil ist die nur geringe Diffusionsverbreiterung der Flecke gegenüber der Makro-DC. Die Durchmesser der Auftrageflecken sollen 2 mm nicht überschreiten [29], wodurch sich auf gleichem Raum eine wesentlich höhere Analysenzahl ergibt. Die Auftragevolumina liegen dabei in der Größenordnung von 100 nl.

Der Plattenrahmen des Schoeffel DC-Spektralfotometers SD 3000 ist ursprünglich nur zur Aufnahme von 20 x 20 cm Normalplatten geeignet. Als Adapter für die neue Plattengröße verwendeten wir eine 200 x 200 x 2 mm große Aluminiumplatte mit zentralem Ausschnitt 100 x 100 mm, in dem die HPTLC-Platte so gehalten wird, daß ihre Schichtoberfläche parallel und in derselben Entfernung von der Meßoptik wie bei Normalplatten verläuft. Das uns zur Verfügung stehende SD 3000 erlaubt bei eng beieinanderliegenden Bahnen wegen der relativ großen Entfernung zwischen Meß- und Vergleichsstrahl nur Einstrahlungsmessung. Eine andere Spaltblende ist geplant, bei der Meß- und Vergleichsstrahl enger zusammenliegen, so daß Zweistrahlbetrieb ohne Störung des Referenzstrahles durch die Nachbarbahn möglich sein wird.

Im Steuerprogramm wurde lediglich der Bahnabstand sowie die Schrittpaketgröße für die Abtastung geändert.

* HPTLC = High Performance Thin Layer Chromatography

5.3.2.1. Vollautomatisches Vermessen eines Mehrkomponenten-Farbstoffgemisches (Merck, Darmstadt)

5.3.2.1.1. Durchführung und Ergebnisse

Die Eignung der Rechnersteuerung für die Nano-DC wurde mit Hilfe von HPTLC-Testplatten (Merck) geprüft. Diese fertig entwickelten Platten enthielten ein im Abstand von 5 mm aufgetragenes Mehrkomponenten-Farbstoffgemisch. Die Auftragemenge belief sich dabei auf 30 ng Substanz/Fleck. Da die Farbstoffe bei unterschiedlichen Wellenlängen absorbieren, wurde breitbandig bei 450 nm gemessen, um möglichst viele Komponenten zu erfassen. Um am Routineauswertungsprogramm nichts ändern zu müssen, wurde willkürlich eine Komponente als interner Standard definiert, ebenso sollten alle geradzahligen Bahnen Analysenbahnen darstellen (E, A, E, A ...). Unter den gegebenen Versuchsbedingungen wurden vom System sieben Komponenten erkannt, als interner Standard diente Fleck Nr. 4. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefaßt.

Tab. 5.10 Rechnergesteuerte Abtastung von HPTLC-Platten mit Farbstofftestgemisch, 16 Bahnen, E, A, E, A, ...

		Komponente Nr.						
Bahn		1	2	3	4	5	6	7
2		99.37	97.34	97.61	interner Standard	101.26	97.65	98.16
4		98.65	101.20	102.63		97.93	98.67	99.63
6		99.31	98.60	95.77		93.17	95.53	100.74
8		99.49	100.92	102.34		106.87	100.87	107.99
10		99.46	97.89	97.32		97.36	97.68	99.50
12		98.50	101.50	101.86		104.18	100.85	99.67
14		100.04	98.08	96.96		95.22	93.60	97.64
16		99.40	98.53	97.50		96.70	98.49	100.67
$\bar{x}$	=	99.28	99.26	99.00		99.09	97.79	100.50
σ	=	0.49	1.67	2.78		4.65	2.51	3.21
$\sigma_{\text{rel}} \%$	=	0.493	1.682	2.808		4.692	2.566	3.194

Bei den Ergebnissen fällt die verhältnismäßig weite Streuung von σ_{rel} (0.493 bis 4.692) auf. Da die gewählte Wellenlänge nicht für alle Komponenten optimal ist, ergeben sich enorme Unterschiede in den Peakhöhen, wie die Registrierkurve in Abb. 5.11 zeigt. Als größten Peak ergibt sich für Farbstoffkomponente 1 insgesamt der kleinste Fehler, während der kleinste Peak (Peak Nr. 5) mit dem größten Fehler behaftet ist. Die Peakhöhen liegen in diesem Fall weit über eine Zehnerpotenz auseinander. Störungen des Untergrundes, wie Basisliniendrift oder die nicht vollständige Trennung von Komponente 5 und 6, machen sich bei der unter den gegebenen Bedingungen niedrig absorbierenden Substanz ungleich stärker bemerkbar. Hinzu kommt noch die begrenzte Auflösung des Digitalvoltmeters - alle Peaks werden in demselben Meßbereich erfaßt. Moderne A/D-Wandler für Großrechner verfügen über eine automatische Meßbereichsumschaltung.

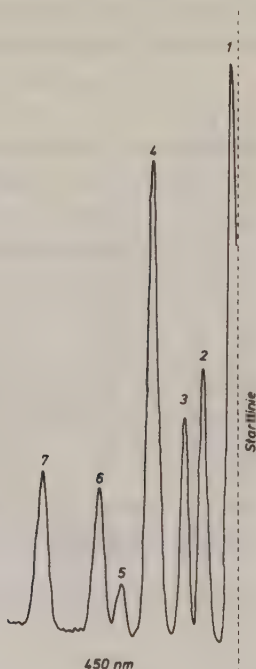


Abb. 5.11

6. Datenübertragung vom CS 900 (Shimadzu DC-Fotometer) auf Tischrechner insbesondere für
Messungen im ng-Bereich

Als dritter Fotometertyp stand das Zweiwellenlängen DC-Spektralfotometer CS 900 von Shimadzu zur Verfügung, das bereits unter 2.3. beschrieben wurde. Es ist prinzipiell möglich, auch dieses Gerät auf Schrittmotorantrieb umzurüsten, jedoch ist dies mit erheblichem handwerklichen Aufwand verbunden. Aus diesem Grunde wurde auf eine aktive Rücksteuerung vom Rechner verzichtet und im folgenden ein passiv datenverarbeitendes System beschrieben. Die Steuerung mittels Tischrechner würde dabei der des Schoeffel SD 3000 weitestgehend entsprechen.

Dabei bieten sich zwei Möglichkeiten an:

1. Fleckpositionierung wie beim SD 3000 unter Ausschaltung des zig-zag-Scans
2. Abtastung eines jeden Fleckes im zig-zag-Scan ohne Einzelpositionierung

Für die zweite Möglichkeit ist eine verhältnismäßig aufwendige Datenübergabelogik erforderlich, die weiter unten noch beschrieben wird.

6.1. Erfassung von Flecken im ng-Bereich [2]

Begrenzender Faktor bei Remissionsmessungen im ng-Bereich ist die Inhomogenität der Sorbensschicht. Hierdurch ergeben sich Schwankungen der Intensität des remittierten Lichtes, die wesentlich größer als das Rauschen des zur Detektion verwendeten Photomultipliers und des immer notwendigen elektronischen

Verstärkersystems sind. Bei Messungen im Einstrahlbetrieb gehen alle Untergrundeffekte unmittelbar in das Meßsignal ein. Im Gegensatz zur Kompensation von typischen Plattengradienten und der Absorptionseffekte der Fließmittelfront kann das Zweistrahprinzip das Nutzsignal nicht verbessern. Lediglich Meßmethoden, bei denen das Referenzsignal am Ort der Probe gewonnen wird, können zu einer Verbesserung des Signal/Rausch-Verhältnisses beitragen (Simultan- bzw. Zweiwellenlängenmessungen).

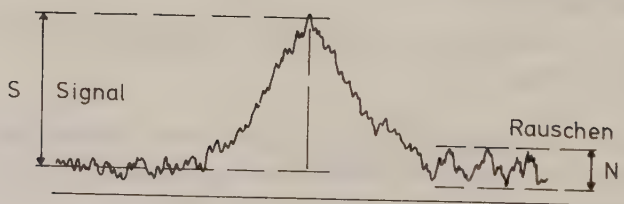


Abb. 6.1 Definition des Signal/Rausch-Verhältnisses
(signal + noise to noise)

6.1.1. Über die Nachweisgrenze bei der in situ-Auswertung von Dünnschichtchromatogrammen

Häufig findet man in der Literatur Angaben über die Nachweisgrenze einer Substanz bei der quantitativen in situ-Auswertung von Dünnschichtchromatogrammen. Diese Angabe ist gerade im Hinblick auf die Anwendbarkeit der Methode im Ultramikrobereich von einiger Aussagekraft.

In erster Linie ist die Angabe der Nachweisgrenze an die untersuchte Substanz geknüpft: bei sonst völlig identischen Meßbedingungen wird eine Substanz mit einem hohen Wert für die molare oder spezifische Extinktion eine bessere Nachweismöglichkeit ergeben als eine Substanz mit entsprechend niedrigen Extinktionswerten. Doch sei hierbei darauf hingewiesen, daß die Angabe einer Nachweisgrenze ohne zusätzliche Angaben bestimmter Parameter wertlos ist. Es müssen folgende Analysendaten mit angegeben werden:

- Auftragevolumen, hiervon hängt die Größe des Startfleckes und somit die Konzentration in der Fleckmitte ab.
- Auftragetechnik, hier müssen vor allem dann exakte Angaben gemacht werden, wenn nicht das ganze Auftragevolumen auf einmal aufgetragen wird (wichtig bei automatischen Auftragesystemen!).
- Wanderungsstrecke, die Diffusionsverbreiterung jedes DC-Fleckes hängt von der Wanderungsstrecke unmittelbar ab; die Angabe des Rf-Wertes allein genügt nicht.
- Signal/Rausch-Verhältnis (richtiger: Signal + Rauschen/Rauschen), durch die Inhomogenität der Sorbensschicht können Signale vorgetäuscht werden; wichtig vor allem im Hin-

blick auf eine Abschätzung des Fehlers bei einer quantitativen Bestimmung.

- Meßspalt und Fleckdurchmesser, aus der Relation beider Größen ergeben sich weitere Anhaltspunkte für die Nachweisgrenze; mit einem breiten Spalt ergeben sich flachere Peaks als mit einem schmalen Spalt.

Nur unter kritischer Würdigung aller dieser Daten kann man letztlich eine Aussage über die Nachweisgrenze treffen. Für die Praxis kann man aus diesen Betrachtungen die Folgerung ziehen: soll eine Nebenkomponeute in geringer Konzentration nachgewiesen werden, so sollte ein möglichst kleines Auftragevolumen bei höherer Konzentration vorgezogen werden, ohne allerdings den Fleck zu überladen. Die absolute Wanderungstrecke darf nicht so groß sein. Darüberhinaus hängt die Nachweisgrenze noch stark vom verwendeten Meßprinzip ab.

Sudanrot wurde in der Literatur wegen seines relativ hohen Extinktions-Koeffizienten als Modellschubstanz für den Vergleich der Nachweisgrenze im sichtbaren Spektralbereich über Remissions-, Transmissions- und Simultanmessung verwendet [9, 10]. Bei der Simultanmessung [11] nutzt man das Remissionssignal und das Transmissionssignal in einem definierten Verhältnis zur Basislinienglättung aus. Es läßt sich nämlich zeigen, daß Remission und Transmission gegensinnig auf das Untergrundrauschen und auf die Basisliniendrift reagieren. Mit Hilfe der Zweiwellenlängentechnik - hierbei dient eine Wellenlänge im Absorptionsmaximum der Substanz als Meßgröße und die andere Wellenlänge als Referenzsignal; beide Wellenlängen werden in raschem zeitlichem Wechsel eingestrahlt - sollte ebenfalls eine sehr gute Glättung der Basislinie und damit verbunden eine Verbesserung der Nachweisgrenze möglich sein.

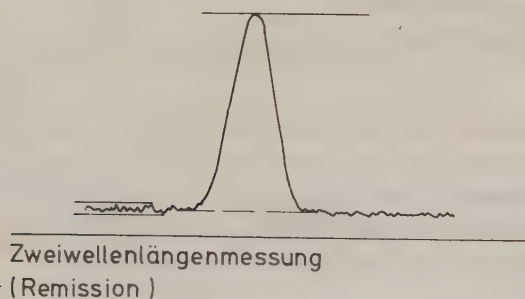
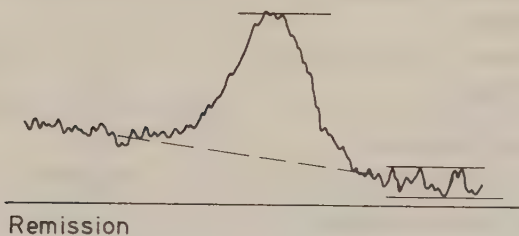
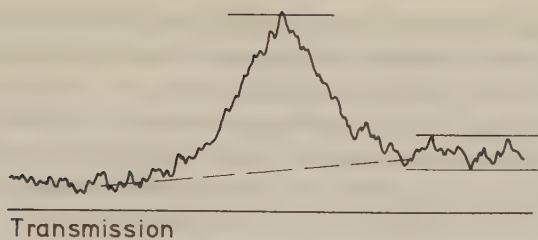


Abb. 6.2

Abbildung 6.2 zeigt einmal den Gewinn an Signal/Rausch-Verhältnis bei der Remissionsmessung gegenüber der Transmissionsmessung, zum anderen aber die enorme Signalverbesserung bei

der Zweiwellenlängenmessung. Auch im zig-zag-Scan ist noch eine sehr gute Auswertungsmöglichkeit gegeben. Abweichend von der Angabe der Bedienungsanleitung wurde mit einem Vorschub von 2,5 mm/min statt 10 mm/min gearbeitet. Hierdurch ergeben sich Verbesserungen bei der Auswertung über die Peakhöhe. Alle Abbildungen basieren auf Vermessung desselben Fleckes, sind folglich unmittelbar vergleichbar.

Tab. 6.1 Vergleich der Nachweisgrenze bei verschiedenen Meßverfahren

Meßverfahren	S/N
Einstrahl-Transmission	8,7
Einstrahl-Remission	11,3
Zweiwellenlängenmessung:	
lin. Remission	40,0
zig-zag-Remission	7,4
zig-zag-Transmission	11,5

Weitaus die größte Zahl von quantitativen in situ-Auswertungen - nach manchen Schätzungen weit über 90% - werden im ultravioletten Spektralbereich durchgeführt. Hierbei ist es nicht mehr möglich, mit Hilfe von simultanen Transmissions- und Remissionsmessungen die Nachweisgrenze zu verbessern.

Bei der Zweiwellenlängenmeßtechnik scheint zunächst die Theorie der diffusen Reflexion eine echte Grenze zu setzen: Hauptursache der Schwankungen im Remissionsgrad des Untergrundes sind wahrscheinlich Änderungen der Teilchengröße des als Sorbens dienenden Kieselgels und Änderungen der Oberflächenstruktur; diese Änderungen gehen jedoch mit der 4. Potenz der Wellenlänge einher.

lenlängen in die Streuung ein, d. h. sie können durch die Zweiwellenlängenmeßtechnik theoretisch nur schwer eliminiert werden. In der Praxis kann man jedoch diese Schwierigkeit zumindest zum größten Teil dadurch umgehen, daß man die Referenzwellenlänge soweit wie möglich an die Meßwellenlänge heranschiebt. Hierbei ergibt sich zunächst eine Verbesserung des Signal/Rausch-Verhältnisses (Abb. 6.3).

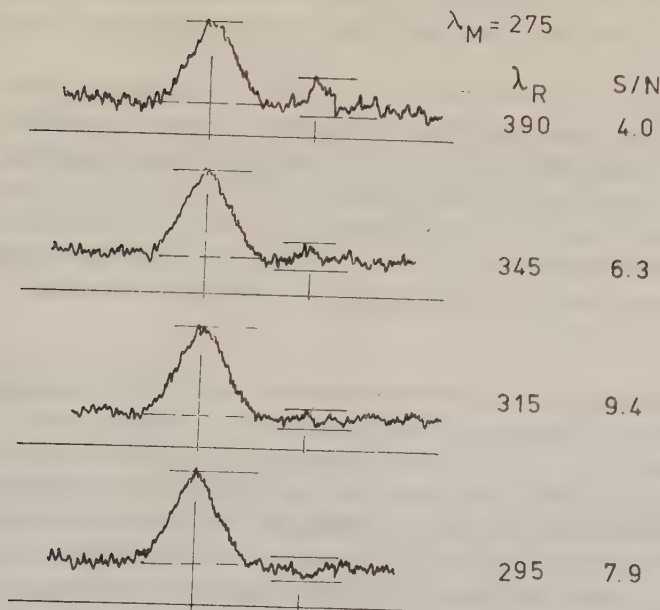


Abb. 6.3

Schließlich verringert sich jedoch - durch die Absorption der untersuchten Substanz auch im Bereich der Referenzwellenlänge bedingt - das Nutzsignal, so daß wieder eine Verschlechterung des S/N-Verhältnisses eintritt. Im Linearscan können die beiden Wellenlängen bis auf 20 - 25 nm angenähert werden. Durch eine Verbesserung der Verstärkertechnik sollte eine noch bessere Nachweisgrenze erreichbar sein, wie später noch gezeigt wird. Im zig-zag-Scan ist diese relativ benachbarte Wahl der Meß- und Vergleichswellenlänge ebenfalls einsetzbar. Im letzteren Falle ist jedoch zu bedenken, daß durch die sich ändernde Alternanz von hohen und niedrigen Signalen auf der an- bzw. absteigenden Peakflanke das resultierende Signal die Form eines differenzierten Signals annehmen kann.

Üblicherweise liegt der Bereich der quantitativen in situ-Auswertung von Dünnschichtchromatogrammen durch Remissionsmessungen im μg -Bereich. Der Fehler herkömmlicher Auswertungen liegt in der Größenordnung von etwa 3 - 5%. Die Verwendung elektronischer Integratoren [0, 12], die Methode des internen Standards [13, 14], sowie der Einsatz der Rechnersteuerung (vgl. Kap. 5) ergeben weitere Verbesserungen auf bis zu unter 1%.

Im Zusammenhang mit dieser Untersuchung über die Nachweisgrenze interessierte nun auch vor allem die Möglichkeit einer Auswertung mit Hilfe der Remissionsmessung im ng-Bereich. Bislang war es praktisch nur möglich, in diesem Bereich mit einer Fluoreszenzmessung zu arbeiten, wodurch die Methode sehr stark eingeengt wurde. Angeregt durch das gute S/N-Verhältnis bei der Zweiwellenlängen-Remission wurden deshalb 1 - 10 ng Sudanrot quantitativ vermessen. Dabei ergab sich, daß 1 ng Sudanrot noch gut nachweisbar, allerdings nicht mehr quantitativ bestimmbar ist (Abb. 6.4).

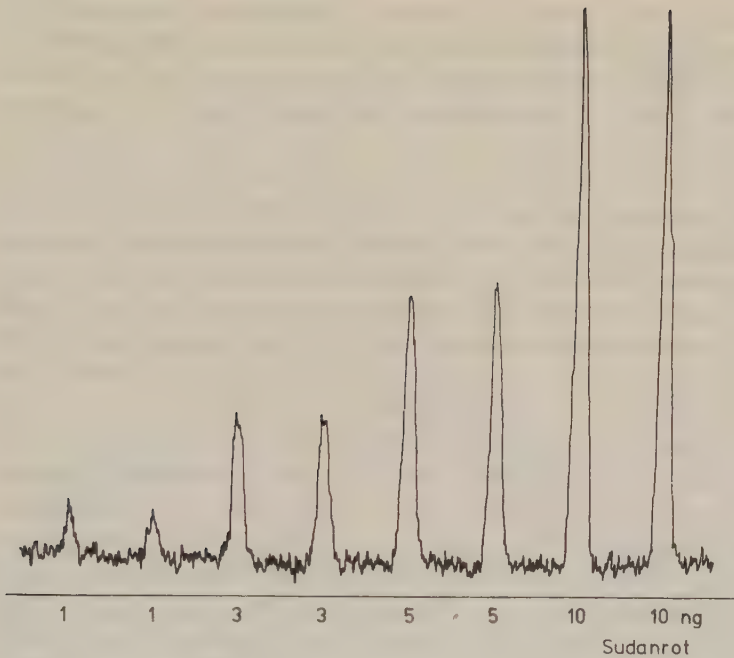


Abb. 6.4

Im Bereich von 3 - 10 ng ergab sich eine Genauigkeit der Auswertung von etwa 1,9% (als genäherte relative Standardabweichung). Im Gegensatz zur quantitativen Bestimmung im erweiterten μg -Bereich besteht im unteren ng-Bereich ein linearer Zusammenhang zwischen Peakhöhe und Konzentration [15]. Hierdurch entfällt die ungünstigere Fehlerfortpflanzung, die bei dem empirisch gefundenen quadratischen Zusammenhang zwischen Fläche unter der Remissionsgrad-Ortskurve und Konzentration im μg -Bereich auftritt.

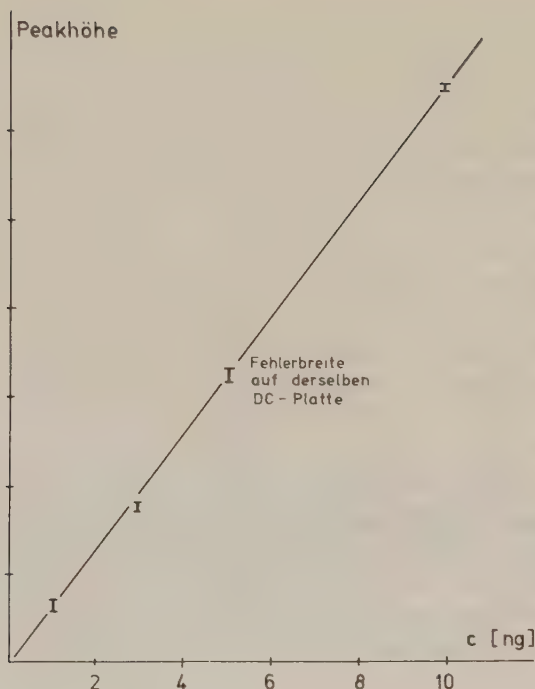


Abb. 6.5 Eichgerade zur Bestimmung von Sudanrot im Bereich von 1 - 10 ng/Fleck; Auswertung Peakhöhe; $\lambda_M = 515 \text{ nm}$, $\lambda_R = 615 \text{ nm}$ Linearscan

Problematisch bei der Messung in diesem Konzentrationsbereich ist das Positionieren des DC-Fleckes im Meßspalt des DC-Scanners. Bereits relativ geringe Abweichungen von der zentrierten Position können Fehler von einigen Prozent nach sich ziehen. Dies kann man durch Verwendung des zig-zag-Scans umgehen, da bei jedem einzelnen Teilscan der Fleck

mit Sicherheit vollständig und richtig erfaßt wird. Eine Auswertung über die Peakhöhe im Konzentrationsbereich von 20 bis 100 ng ist ohne weiteres möglich (Fehler bei Remission $\sigma_{\text{rel}} = 2,25\%$, Fehler bei Transmission $\sigma_{\text{rel}} = 2,97\%$, $n = 6$).

Auch im ultravioletten Spektralbereich sind quantitative Messungen im Bereich sehr geringer Konzentration noch möglich. So beträgt bei geeigneter Wahl der Meß- und Referenzwellenlänge (275 bzw. 310 nm) der Fehler bei der Bestimmung von Coffein im Bereich von 30 - 100 ng/Fleck als genäherte relative Standardabweichung 2,5% ($n = 15$).

Durch geeignete Aufarbeitung des Meßsignals sowie durch rechnerische Maßnahmen kann der Meßbereich nach unten bei noch vertretbarem S/N-Verhältnis erheblich erweitert werden. Jedoch darf bei allem auch noch so geschickten Rechenmaßnahmen eines nicht vergessen werden: Nie und nimmer kann in die Meßdaten etwas hineingerechnet werden, das die Chromatographie nicht hergibt - man könnte letztere sonst ganz weglassen und die Analyse gleich in den Rechner gießen*.

6.1.2. Datenerfassung im Linearscan

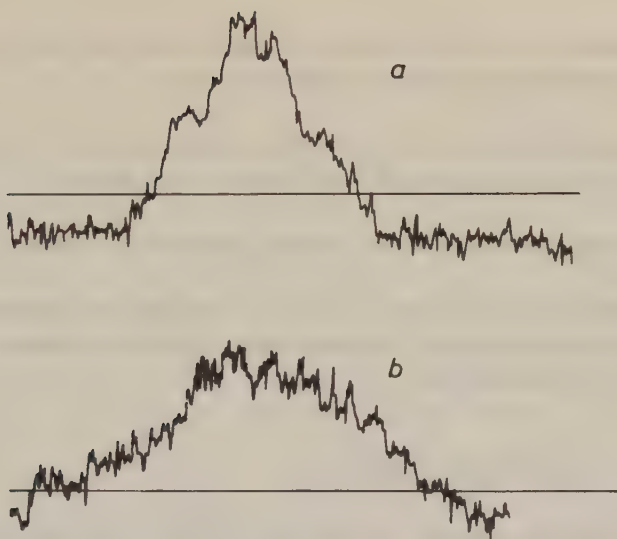
Da es sich hierbei um rein passive Datenübernahme vom Rechner handelt, können die gleichen Systeme, wie sie z. T. in Industrie und Forschung als Großrechnerkopplungen eingesetzt werden, Verwendung finden. Je nach Art der Auswertung handelt es sich dabei um elektronische Integratoren oder Analog/Digital-Wandler.

* Zitat nach R. E. Kaiser

Als A/D-Wandler kommen für den Tischrechnerbetrieb wieder das Digitalvoltmeter HP 3470, sowie nach entsprechender Verstärkung der mit allen HP-Tischrechnermodellen der Serie 9800 kompatible ADC-7501 in Frage.

Es wurde ein selbstgebauter Meßverstärker, bei dem die Verstärkung einstellbar ist und der es außerdem gestattet, neben mehreren definierten Tiefpaß-Zeitkonstanten (6 dB/Oktave) noch wahlweise steiflankige elliptische Tiefpaßfilter zuzuschalten, zwischen Fotometer und Digitalvoltmeter geschaltet. Durch die digitale Datenübergabe (data rate: 8/sec) wird ohnedies höherfrequentes Rauschen eliminiert. Durch geeignete Wahl von Verstärkung und Filtern lassen sich so noch Peaks erkennen und auswerten, bei denen das Schreiberprotokoll schon keine Auswertung mehr zuläßt. Darüber hinaus kann im Rechner eine weitere Signalglättung dadurch durchgeführt werden, daß pro Meßpunkt mehrere Daten eingelesen und gemittelt werden. Die so gewonnenen Daten können im Rechner zur quantitativen Auswertung herangezogen bzw. ausgeplottet werden. Trotz der Glättungsmaßnahmen bleibt, bedingt durch die hohe Verstärkung ($V = 100$ bei 1 mV/Papierbreite), ein dem Peak überlagertes Restrauschen (Abb. 6.6). (Vgl. dazu auch Abb. 6.4: Sudan 1 ng ohne zusätzliche Maßnahmen!).

Mit Hilfe einer Quasi-Gauß-Approximation lassen sich solche und noch stärker verrauschte Peaks problemlos glätten und quantitativ auswerten [16].



Sudan. 500 pg

	<i>a</i>	<i>b</i>
<i>Datenrate / Meßpunkt :</i>	4	1
<i>Scangeschwindigkeit :</i>	2.5	10.0
<i>Verstärkung :</i>	100	250
<i>Zeitkonstante :</i>	5	10

Abb. 6.6

6.2. Datenerfassung im zig-zag-Scan

Wesentlich problematischer und aufwendiger gestaltet sich die Übergabe von im zig-zag-Betrieb erhaltenen Meßdaten zum Rechner. Großrechner mit ausreichender Speicherkapazität könnten über schnelle A/D-Wandler den gesamten Scan lücken-

los erfassen. Diese Möglichkeit schied jedoch bei unserem Tischrechner-Digitalvoltmeter-System aus:

1. Die Akkomodationszeit des Digitalvoltmeters ist länger als die Zeitdauer eines Einzelpeaks des zig-zag.
2. Es können maximal 8 Daten/Sekunde übergeben werden.
3. Mit schnellem A/D-Wandler wäre bei lückenlosem Abspeichern aller Daten die Speicherkapazität des Rechners schnell überschritten.

6.2.1. Datenübergabesystem

Da für die anschließende quantitative Auswertung lediglich die Hüllkurve von Interesse ist, bietet sich eine Reduzierung der Datenmenge auf die Maxima der Einzelpeaks an. Ein eigens hierfür konstruiertes Datenübergabesystem wählt unter den anstehenden Meßwerten diese Einzelmaxima aus und gibt nur diese an den Rechner weiter.

Die darin verwendete Logik muß also in der Lage sein, jeden Einzelpeak des Flächenprofils zu erkennen und jedes Maximum für eine kurze Zeit, die das Digitalvoltmeter zur Einstellung benötigt, zu speichern. Durch einen Übergabeimpuls wird der anstehende Meßwert in den Rechner eingelesen, erst dann darf der Speicher zum Auffinden des nächsten Einzelpeaks gelöscht werden.

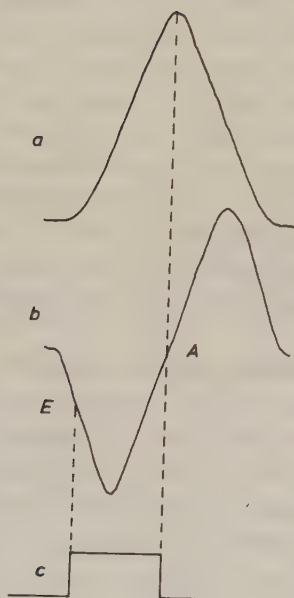


Abb. 6.7 Einzelpeak des zig-zag-Scan,
Zeitachse stark gedehnt

6.2.2. Erkennung der Einzelmaxima

In der Literatur über analoge Rechenverstärker sind diverse Maximum-Speicher beschrieben, in denen durch das Ausgangssignal des Fotometers ein Kondensator während der ansteigenden Peakflanke aufgeladen wird. Eine Diode verhindert, daß er sich während der absteigenden Flanke wieder entlädt. Die am Kondensator anstehende Spannung wird hochohmig abgegriffen und stellt das Peakmaximum dar. In der beschriebenen Form hält diese Schaltung allerdings von allen Peaks nur den absolut höchsten Wert fest. Eine zusätzliche Logikschaltung müßte das Ende jedes Einzelpeaks erkennen und den Speicher jedesmal löschen.

Ein anderer Weg, das Peakmaximum zu erkennen, führt über die erste Ableitung (b) des Fotometersignals (a), die an der Stelle des Maximums eine Nullstelle besitzt. Das differenzierte Signal (b invertiert) wird einem Schmitt-Trigger, dessen Ein- und Auschaltpunkt so gelegt wird, wie in Abbildung 6.7 gezeigt, zugeführt.

Hierbei kennzeichnet die abfallende Flanke des Schmitt-Trigger-Signals (c) das Peakmaximum. Diese löst dann die weiteren Speicher- und Übergabefunktionen aus.

6.3. Beschreibung der Elektronik

6.3.1. Signalaufbereitung

Der Ausgangssignalpegel des CS 900 ist je nach durchzuführender Analyse erheblichen Schwankungen unterworfen. Es kommen sowohl Peaks in der Größenordnung von 0,1 mV als auch von 100 mV vor. Da das Datenübergabesystem Fleckkonzentra-

tionen im ng-Bereich erfassen soll, muß das Ausgangssignal zuerst einmal vorverstärkt werden. Am Oszilloscope fällt ein erheblicher Rauschanteil auf, dessen deutlichste Komponenten aus Resten der 50 Hz-Netzfrequenz sowie dem gehoppten Abtaststrahl bestehen. Ferner findet sich noch höherfrequentes Rauschen. Wird dieses Signal nun direkt differenziert, werden hohe Frequenzen ungleich höher verstärkt als niedrige, so daß das Nutzsignal hinterher im Rauschen völlig untergeht. Vor der Differentiation muß das verstärkte Meßsignal erst ein Tiefpaßfilter durchlaufen, dessen Grenzfrequenz etwas oberhalb der Peakfrequenz liegt. Dieses Filter läßt das Meßsignal ungehindert passieren, während alle Frequenzen oberhalb der Grenzfrequenz, entsprechend der Filterdämpfung, abgeschnitten werden. Das so geglättete Signal wird dann der eigentlichen Logik zugeführt.

6.3.2. Blockschaltbild

Abb. 6.8 zeigt das Blockschaltbild der Schaltung. Im Eingang liegt ein Gleichspannungsverstärker, an dem über ein Potentiometer die Basislinie abgeglichen werden kann. Das verstärkte Signal gelangt über ein Tiefpaßfilter (TP 1) zu einem Sample-Hold-Amplifier (S/H). Je nach dem logischen Pegel seines control-Anschlusses folgt der Ausgang dem Eingangssignal (sample), oder aber der momentare Wert der Eingangsspannung wird gespeichert (hold) - in unserem Falle jeweils das Peakmaximum. Über ein Digitalvoltmeter wird der Ausgangspegel dann in den Rechner eingelesen.

Das verstärkte und geglättete Meßsignal, das sowohl positive als auch negative Peaks beinhalten kann, wird parallel dazu zur Maximumerkennung herangezogen. Da die nachfolgende Logik nur auf Peaks einer Polarität anspricht, wird das Signal vor der Differentiation gleichgerichtet. Der Differenzierer ver-

schlechtert nun das Signal/Rausch-Verhältnis wiederum, so daß ein weiterer Tiefpaß (TP 2) nötig war. Der nachfolgende Schmitt-Trigger -Ein- und Ausschaltpunkt wird nach Abbildung 6.7 eingestellt - wandelt das Signal in einen Rechteckimpuls um, dessen abfallende Flanke mit dem Peakmaximum zusammenfällt. Diese Flanke setzt gleichzeitig zwei monostabile Kippstufen, von denen MMV1 für ca. 400 ms im astabilen Zustand verbleibt. Sein Ausgang speichert über "control" des S/H-Amplifiers für diese Zeit den gerade anliegenden Pegel des Meßsignals (Peakmaximum). MMV2 gibt nach Ablauf von 300 ms, in denen sich das Digitalvoltmeter auf diesen Meßwert einstellen kann, den Datenübergabeimpuls ab. 100 ms später fällt MMV1 in den stabilen Zustand zurück, das System ist bereit zur Aufnahme des nächsten Peaks.

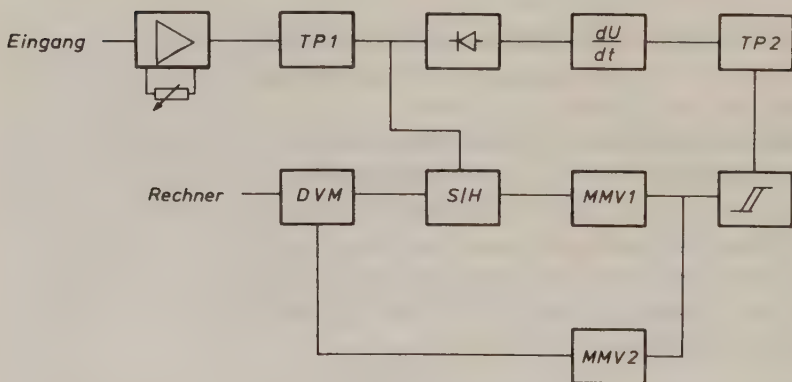


Abb. 6.8

6.3.3. Schaltungsbeschreibung

IC 1 verstärkt das Eingangssignal variabel bis 100-fach, wobei zwei Dioden den Operationsverstärker vor Überspannung schützen. Zur Einstellung des Nullpunktes (Basislinie) wird dem verstärkten Signal mit IC 2 über ein Potentiometer eine Gleichspannung aufaddiert. Das so vorbereitete Signal enthält noch alle möglichen unerwünschten Frequenzanteile (Rauschen etc.).

Zur Glättung wird hier ein aktives, elliptisches Tiefpaßfilter verwendet, das sich durch extrem steile Filtercharakteristik auszeichnet. Solche Filter sind als fertige Hybridbausteine im Handel [17], lassen sich aber auch mit einfachen Mitteln selbst erstellen [18]. Mit IC 3 ist solch ein Filter aufgebaut, dessen cutoff-Frequenz bei etwa 10 Hz liegt. Die Signalfrequenz liegt in der Größenordnung von 0,5 bis 1 Hz, kann also ungehindert passieren. Alle Rauschanteile, Reste der Netzfrequenz sowie die Chopperfrequenz werden ferngehalten. Ein sample/hold-Amplifier übernimmt das geglättete Meßsignal und speichert bei "H" am sample-hold-control-Eingang den augenblicklich anstehenden Wert. Dieser Zeitpunkt wird von einer Logikschaltung bestimmt, die über die erste Ableitung das Peakmaximum erkennt.

Im Zweiwellenlängenbetrieb können je nach Aufgabenstellung und Einstellung des Gerätes auch negative Peaks vorkommen, die vom System erkannt werden müssen. Das differenzierte Signal soll aber in beiden Fällen denselben Verlauf zeigen: erst negative Halbwelle, dann positive, damit der nachfolgende Schmitt-Trigger immer zum selben Zeitpunkt schaltet.

Vom Eingang des sample-and-hold-Amplifiers wird daher das Meßsignal abgegriffen (A) und gleichgerichtet. Dies muß mit-

tels eines aktiven Gleichrichters durchgeführt werden, da bei kleinen Signalen die Durchbruchspannung von Silizium- oder Germaniumdioden nicht erreicht wird. Diesen aktiven Gleichrichter liefern IC 5 und IC 6, an dessen Ausgang nun alle Peaks, gleichgültig ob positiv oder negativ, stets positiv anstehen. Da sich durch die Differentiation mit IC 7 das Signal/Rausch-Verhältnis wieder erheblich verschlechtert, was zu Fehlschaltungen des Schmitt-Triggers (IC 9) führt, wird das differenzierte Signal durch ein weiteres elliptisches Tiefpaßfilter geglättet. Für unsymmetrische Hysterese ist der Schmitt-Trigger mit einer Diode geclampt. Die verbleibende Restoffsetspannung kann mit dem 1 K - Trimpotentiometer so abgeglichen werden, daß die Ausgangsspannung bei negativer Flanke des Eingangs von - 15 V auf 0V springt und im Null-Durchgang wieder auf - 15 V zurückfällt. Die Hysterese, und damit die Ansprechempfindlichkeit, kann über ein weiteres Potentiometer eingestellt werden.

Ein SN 7413 bringt den Schmitt-Trigger-Ausgang auf TTL-Pegel. Die negative Flanke dieses Rechteckimpulses kennzeichnet das Peakmaximum, welches vom TP 4856 gespeichert werden soll. Zwei SN 74121 werden dadurch gleichzeitig getriggert. Der erste (IC 11) hält über seinen Q-Ausgang sample-hold-control für etwa 400 ms auf "H"-Potential. Für diese Zeit wird das Peakmaximum gespeichert. $\bar{Q}$ von IC 12 bleibt ca. 300 ms auf "L", seine positive Flanke dient dem Digitalvoltmeter als Trigger. Der Meßwert wird jetzt vom Rechner übernommen. 100 ms später geht sample-hold-control auf "L", der Speicher ist frei für den nächsten Peak.

6.4. Auswertungsmöglichkeiten der gewonnenen Daten

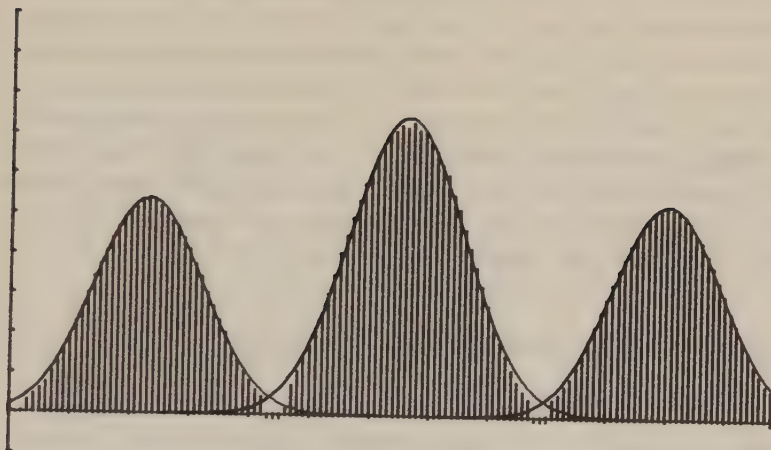
Das hier beschriebene System liefert dem Rechner nur Meßwerte, die ausschließlich von Peaks stammen. Daten aus dem fleckfreien Untergrund bleiben bislang noch unberücksichtigt. Vor und nach jedem DC-Fleck müssen also - z. Zt. noch manuell - einige Meßwerte über den manuellen Trigger des Digitalvoltmeters eingelesen werden. Bei Anwendung von Interrupt- oder Time-Sharing-Systemen könnten diese jeweils vom Rechner angefordert werden.

Von der Auswertungsseite bieten sich nun an gebräuchlichen rechnerischen Verfahren an:

- Peakhöhe, der Rechner sucht aus den Einzelpeaks jedes Fleckes jeweils den höchsten aus und berechnet unter Berücksichtigung des Verlaufs der Basislinie die Peakhöhe.
- Peakfläche, a) näherungsweise Bestimmung der Fleckprofilfläche, durch Aufsummieren der Einzelmaxima; b) genauere Flächenbestimmung durch Rekonstruktion der Hüllkurve mittels Quasi-Gauß-Approximation [16]. Abb. 6.10 zeigt ein solches aus diskreten Einzelwerten bestehendes Fleckprofil sowie den approximierten Peak.

6.5. Auswertung über die KUBELKA-MUNK-Funktion [19]

Im eingeschränkten Konzentrationsbereich [20, 21] und bei sehr niedrigen Substanzmengen (ca. 30 - 100 ng bei Remissionsmessungen) übertrifft die Auswertung über die Peakhöhe wegen der günstigeren Fehlerfortpflanzung oftmals aufwendigere Methoden. Im höheren Konzentrationsbereich wertet man meist mit dem Quadrat der Fläche der Remissionsgrad-Ortskurve aus [22]. Für Messungen in insgesamt größeren



Coffein	c:	500 ng	700 ng	500 ng
Signalmaximum:		53.15	73.55	53.00
Maximum der Ausgleichskurve:		53.96	75.07	53.72
Fläche unter der Ausgleichskurve:		122.87	181.56	122.56

Abb. 6.10

Konzentrationsbereichen arbeitet man am besten mit einer Transformation der Meßwerte mit Hilfe der KUBELKA-MUNK-Funktion [23, 24]. Diese beschreibt bislang am besten das Verhalten einer diffus reflektierenden Schicht. In der Praxis wird der überwiegende Teil der in situ-DC-Auswertungen im ultravioletten Spektralbereich durchgeführt. Aber gerade hier herrscht die Meinung vor, daß die Voraussetzungen der KUBELKA-MUNK-Funktion nicht erfüllt sind und somit auch keine Auswertungen auf diesem Wege möglich sind. Hinzu kommt, daß die Bestimmung des absoluten Remissionsgrades R nicht genau genug und vor allem schlecht reproduzierbar ist.

6.5.1. KUBELKA-MUNK-Funktion [23 - 25]

Es ist bis heute nicht möglich, die genauen Intensitätsverhältnisse eines in eine opake Schicht eindringenden Lichtstrahles mathematisch exakt zu beschreiben. In einem vereinfachten Bild faßt man alle Effekte in Einfallsrichtung zu einer scheinbaren Intensität I zusammen, während alle antiparallelen Effekte mit J bezeichnet werden (Abb. 6.11).

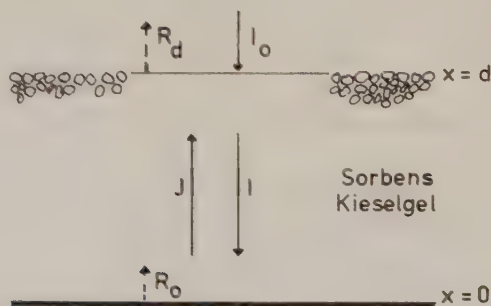


Abb. 6.11 Schematische Darstellung einer Sorptionsschicht zur Symbolerläuterung für die KUBELKA-MUNK-Funktion

Bezüglich der Strahlungsflüsse I und J gelten die beiden folgenden Differentialgleichungen:

$$-\frac{dI}{dx} = -(K+S) \cdot I + S \cdot J \quad (3)$$

$$\frac{dJ}{dx} = -(K+S) \cdot J + S \cdot I \quad (4)$$

K Absorptionskoeffizient/cm, S Streukoeffizient/cm

Für den einfallenden Lichtstrahl (3) bedeutet dies, daß er durch Absorption (K) und durch Streuung (S) an Intensität verliert und durch Streueffekte des antiparallelen Strahlungsflusses an Intensität zunimmt. Für J gelten genau die umgekehrten Überlegungen.

Die Lösung dieses Systems von Differentialgleichungen führt zu der bekannten KUBELKA-MUNK-Funktion F , die allerdings zunächst nur für eine unendlich dicke Schicht gilt:

$$c \sim \frac{K}{S} = \frac{(1-R)^2}{2R} = F \quad (5)$$

Für eine punktförmige Meßfläche ergibt sich hieraus eine Möglichkeit zur Bestimmung der Substanzkonzentration am Meßort nach Gl. (6). Für eine spaltförmige Meßfläche gelten wesentlich kompliziertere Ausdrücke, da die Substanzverteilung in einem DC-Fleck ganz charakteristischen funktionellen Zusammenhängen gehorcht [31].

$$c = K_s \left[\frac{(1 - R_{s,\infty})^2}{2 R_{s,\infty}} - \frac{(1 - R_{u,\infty})^2}{2 R_{u,\infty}} \right] \quad (6)$$

$$K_s = \frac{S}{\varepsilon \cdot \ln 10} \quad (7)$$

R_∞ absolute Remission einer unendlich dicken Schicht

$R_{u,\infty}$ R_∞ an einer substanzfreien Stelle (Remission des Sorbens)

$R_{s,\infty}$ R_∞ an einer substanzbeladenen Stelle der zu vermessenden Schicht

Diese Gleichung kann unmittelbar zur quantitativen Auswertung von Dünnschicht-Chromatogrammen herangezogen werden. Hierbei ist allerdings zu beachten, daß nicht alle Voraussetzungen der Ableitung von Gl. (5) erfüllt sind und daß eine weitere Nebenbedingung gilt.

1. Die Sorbensschicht hat nur eine endliche Dicke, die Messung ergibt jeweils also nur einen Wert für R_d und nicht R_∞ .
2. Für $x = 0$ ist $\frac{J}{I_{x=0}} = R_0 \neq 0$ und entspricht der gerichteten Reflexion des Trägers der Sorbensschicht (Glasplatte, Alufolie).
3. Die in der DC üblichen Sorbentien zeigen neben der diffusen Reflexion auch noch einen geringen Anteil regulärer Reflexion.
4. Nebenbedingung: R ist der absolute Remissionsgrad, meßtechnisch zugänglich ist zunächst immer nur der relative Remissionsgrad R' . Die Umrechnung kann aus dem Verstärkungsfaktor und einem Anschluß an die Größe der absoluten Remission eines Weißstandards* erfolgen (8) [22].

$$R = R' \frac{R_{\text{Stand.}}}{V_r} \quad (8)$$

R absolute Remission, R' relative Remission

$R_{\text{Stand.}}$ absolute Remission eines Standards

V_r Verstärkereinstellung (in rel. T-Einheiten)

* BaSO_4 -Weißstandard nach DIN 5033, E. Merck, Darmstadt

5. Die Voraussetzung einer diffusen Einstrahlung, wie es die angeführten Gleichungen verlangen, ist nicht gegeben (näherungsweise ist dies jedoch nach wenigen Reflexionen an den unregelmäßig geformten Partikeln des Sorbens erfüllt).

Neben dieser Lösung des Differentialgleichungssystems gibt es noch eine sog. hyperbolische Lösung, die nach der Verwendung der hyperbolisch-trigonometrischen Funktionen so benannt ist. Geht man von folgenden, bei der Auswertung von Dünnschicht-Chromatogrammen gültigen Grenzbedingungen aus [26, 27], so gelten unter Einführung der Näherung (11) die Gleichungen (12) und (13) für die Transmission bzw. Remission.

Grenzbedingungen:

$$x = 0 \quad I = I_0 \cdot T \quad J = 0 \quad (9)$$

$$x = d \quad I = I_0 \quad J = I_0 \cdot R \quad (10)$$

Näherung:

$$x = 0 \quad R = 0 \quad (11)$$

Lösung der Differentialgleichungen:

$$T_d = \frac{b}{a \cdot \sinh(b \cdot S \cdot d) + b \cdot \cosh(b \cdot S \cdot d)} \quad (12)$$

$$R_d = \frac{\sinh(b \cdot S \cdot d)}{a \cdot \sinh(b \cdot S \cdot d) + b \cdot \cosh(b \cdot S \cdot d)} \quad (13)$$

$$a = 1 + \frac{K}{S} = \frac{S+K}{S} \quad b = \sqrt{a^2 - 1} \quad (14)$$

T_d Transmission bei der Schicht-
dicke d

R_d Remission bei der Schicht-
dicke d

$R_{d,s}$

$R_{d,u}$ werden analog $R_{s,\infty}$ und
 $R_{u,\infty}$ verwendet

6.5.2. Meßsignal eines Zweiwellenlängen-Densitometers

Die Verwendung von Zweiwellenlängen-Densitometern - prinzipiell auch für Zweistrahl-Densitometer gültig - bringt für eine Auswertung über die KUBELKA-MUNK-Funktion speziell in ihrer hyperbolischen Darstellung einen beträchtlichen Vorteil gegenüber einem Einstrahlgerät: als Meßsignal σ steht eine Größe nach Gleichung (15) zur Verfügung.

$$\sigma = \lg \frac{R'_{d,s}}{R'_{d,u}} \quad (15)$$

Auch hier fallen zunächst nur relative Remissionsdaten R' an, doch haben R'_d und R'_u denselben Umrechnungsfaktor (8), so daß unmittelbar folgt:

$$\sigma = \lg \frac{R'_{d,s}}{R'_{d,u}} = \lg \frac{R'_{d,s} \frac{R_{Stand.}}{V_T}}{R'_{d,u} \frac{R_{Stand.}}{V_T}} = \lg \frac{R_{d,s}}{R_{d,u}} \quad (16)$$

Es ist also nicht notwendig, absolute Remissionswerte zu bestimmen. Man umgeht somit sehr elegant die Probleme eines Weißstandards mit den hiermit verbundenen speziellen Schwierigkeiten im UV-Bereich. Insgesamt ergibt sich als Signal $\mathcal{G}$ die Größe:

(17)

$$\mathcal{G} = \lg \frac{R_{d,s}}{R_{d,u}} = \lg \frac{(1 + S \cdot d) \cdot \sinh(b \cdot S \cdot d)}{a \cdot S \cdot d \cdot \sinh(b \cdot S \cdot d) + b \cdot S \cdot d \cdot \cosh(b \cdot S \cdot d)}$$

Gleichung (17) enthält als unbekannte Größen jedoch noch die Schichtdicke d und den Streukoeffizienten S . Beide Größen treten immer als Produkt auf. Für die z. Zt. handelsüblichen DC-Fertigplatten gilt $2 < S \cdot d < 9$, d.h., man kann den Funktionsverlauf nach Gleichung (17) durch entsprechende Analogrechnerschaltung mit relativ geringem Aufwand linearisieren. Eine Lösung nach Gleichung (5) mit Hilfe von Analogrechnerschaltungen ist ebenso möglich und wurde hier auch praktisch erprobt, doch ist eine solche Schaltung aufwendiger und auch relativ empfindlicher gegen zusätzliche Einflußfaktoren (z. B. Temperatur) [32].

Bei der Linearisierung des Meßsignals $\mathcal{G} = f(c)$ in $\mathcal{G} = g(c)$ geht man von dem berechneten Verlauf von Gl. (17) für verschiedene Werte von $S \cdot d$ aus (Abb. 6.12) [28]. In einem

entsprechenden Zusatzgerät zum Shimadzu CS-900 lassen sich fünf Programme - denen entsprechen fünf Werte für $S \cdot d$ - einjustieren, so daß das endgültige Ausgangssignal praktisch linear zur Konzentration ist.

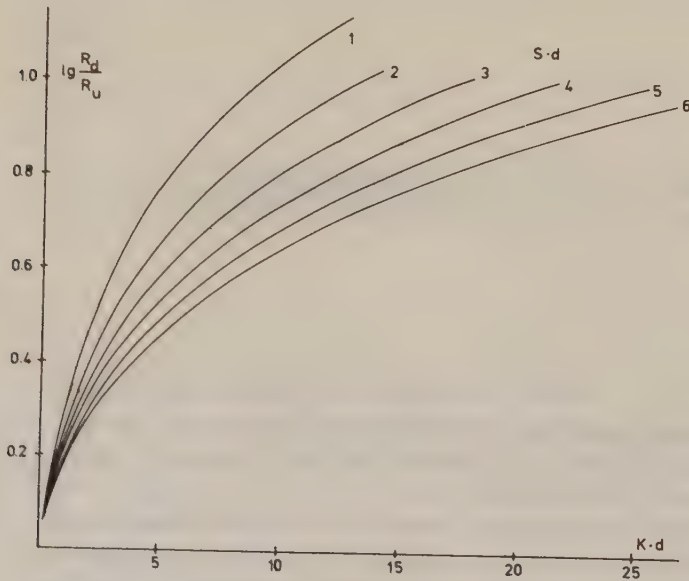


Abb. 6.12

6.5.3. Auswertung über die KUBELKA-MUNK-Peakhöhe

Die Auswertung von Dünnschicht-Chromatogrammen mit einer echten Wandlung der gesamten Remissionsgrad-Ortskurve mit Hilfe der KUBELKA-MUNK-Funktion ist in der Literatur beschrieben [22, 26]. Die Genauigkeit des Verfahrens ist gut, doch ist auch der notwendige Aufwand beträchtlich.

Bei der Anwendung der zig-zag-Scantechnik sowie der Auswertung über die Peakhöhe nach KUBELKA-MUNK lassen sich routinemäßig in kurzer Zeit sehr gute Analysenergebnisse erzielen. Wie an anderer Stelle schon gesagt, entfällt das zeitaufwendige Positionieren. Das Konzentrationsmaximum wird in jedem Falle erfaßt. Es genügt folglich, wenn man lediglich den mittleren Bereich des DC-Fleckes abscannt und anschließend sofort zum nächsten Fleck übergeht. Nach Umrüsten des CS-900 auf Schrittmotorantrieb ließe sich dies vom Rechner her steuern, die Meßdaten werden von dem oben beschriebenen Datenübergabesystem in den Rechner eingelesen, so daß auch die rechnergesteuerte KUBELKA-MUNK-Auswertung keine Schwierigkeiten macht. Abb. 6.13 zeigt eine Registrierkurve, in der nur die mittleren Bereiche der DC-Flecken aufgezeichnet sind.

Am Beispiel von Coffein im Bereich von 4 - 20 μg zeigt Abb. 6.14 die Eichkurven einmal unmittelbar als Meßsignal gemäß Gl. (17), zum anderen nach Linearisierung ($S \cdot d = 3$ und $S \cdot d = 7$). Man erkennt deutlich, daß die Wahl der Größe $S \cdot d$ zwar auf den Verlauf der Ausgleichsgeraden einen Einfluß zeigt, daß aber die Approximation der Meßwerte fast gleich gut erfolgt. Charakteristisch ist die Verschiebung des Ordinatenabschnittes der Eichgeraden bei verschiedenen Werten für den Streukoeffizienten. Diese Gesetzmäßigkeit tritt auch bei der Auswertung nach Gl. (5) auf und zeigt die Äquivalenz beider Methoden.

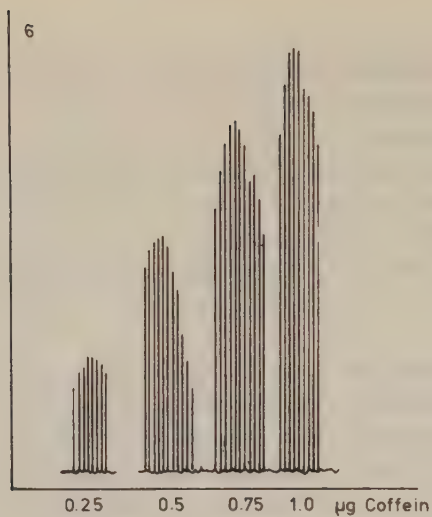


Abb. 6.13

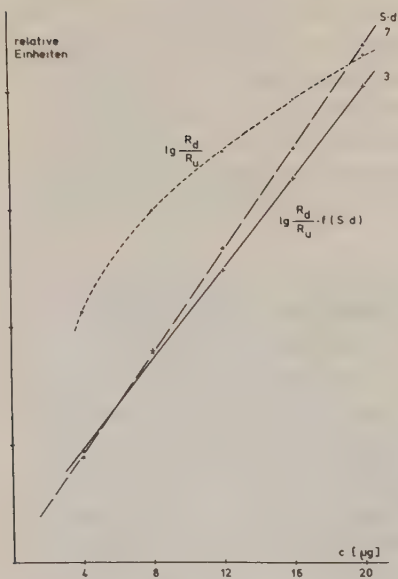


Abb. 6.14

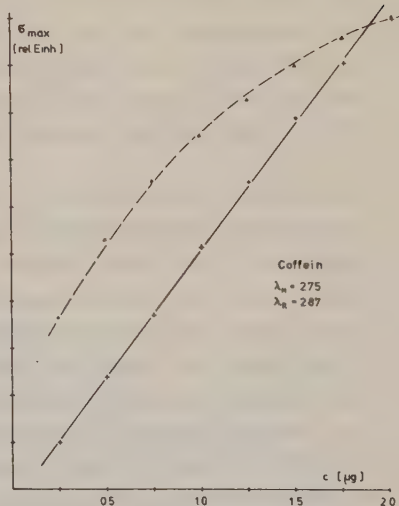


Abb. 6.15

Am Beispiel von Coffein bei 275 nm wurde die beschriebene Auswertemethode ausgetestet. Einige typische Ergebnisse sind in Tab. 6.2 enthalten. Außer einem Konzentrationsbereich von 4 - 20 μg wurde noch ein Bereich von 0,25 - 2,0 μg vermessen. Auch hier zeigt es sich, daß die Linearisierung einwandfrei arbeitet. Zur möglichst weitgehenden Eliminierung von Unregelmäßigkeiten in der Sorptionsschicht sollte man versuchen, mit der Referenzwellenlänge möglichst nahe an die eigentliche Meßwellenlänge heranzugehen. Hierdurch erreicht man, daß die Streukoeffizienten fast gleich groß werden. Beim Coffein kann man z. B. sehr gut mit einer Meßwellenlänge von 275 nm - im Absorptionsmaximum der Substanz - und einer Vergleichswellenlänge von 287 nm arbeiten, d. h., mit einer Differenz von nur 12 nm (Abb. 6.15). Der Fehler als genäherte relative Standardabweichung lag bei 1,92% ($c = 4 - 20 \mu\text{g}$, $n = 15$) bzw. 2,67% ($c = 0,25 - 2,0 \mu\text{g}$, $n = 22$).

Tab. 6.2 Typische Ergebnisse der Coffeinbestimmung mit Korrelationskoeffizient k und genäherter relativer Standardabweichung

gegeben (μg)	gefunden (μg) Platte 1	Abweichung (%)	Platte 2		Platte 3	
			(μg)	(%)	(μg)	(%)
4.0	3.85	- 3.72	3.88	- 3.04	4.05	1.17
8.0	8.29	3.65	8.12	1.45	8.13	1.67
12.0	11.88	- 0.96	12.07	0.57	11.87	- 1.05
16.0	15.95	- 0.32	16.00	0.00	15.67	- 2.09
20.0	20.02	0.12	19.94	- 0.32	20.28	1.4
k	0.9996		0.9998		0.9993	
σ_{rel}	2.65		1.72		1.85	

6.5.4. Experimentelles

Substanzen:	Coffein (rein, DAB 7) Lösungen: 0,025, 0,05, 0,075, 0,1, 0,125, 0,15, 0,175, 0,2 g Coffein/50 ml
DC-Fertigplatten:	Fertigplatten Kieselgel 60 (Merck) ohne Fluoreszenzindikator
Fließmittel:	Aceton / Chloroform (50 : 10, v/v)
Laufstrecke:	10 cm
Auftragetechnik:	0,5 µl Microcaps (Drummond Scientific, Vertrieb: Shandon Labortechnik, Frank- furt)
Densitometer:	Shimadzu SC 900; scan - speed: 2,5 mm / min; zig-zag-Scan; Spalt: 1,25 x 1,25 mm; Meßwellenlänge: 275 nm; Referenzwellenlänge 300 nm
Linearizer:	LIN 53 zum CS 900
Untergrundkorrektur:	BCU 1 zum CS 900
Schreiber:	Colora recorder 1200

7. Schlußbetrachtung

Die vorliegende Arbeit zeigt chronologisch die Entwicklung der Automatisierung in der quantitativen Dünnschichtchromatographie auf. Es wird ein Steuergerät beschrieben, das über Zeitglieder die einzelnen Bahnen auf der DC-Platte ansteuert und mit Vor- und Rückscan abtastet. Mit diesem Gerät ist der Grundgedanke der Automatisierung verwirklicht. Es läßt sich bereits eine erhebliche Zeitersparnis verzeichnen. Durch an das Densitometer angeschlossenen Tischrechner kommt dem System bezüglich der Auswertung eine hohe Flexibilität zu.

Für die Erhöhung der Meßgenauigkeit bleibt eine Verbesserung der Treffsicherheit bei der Ansteuerung der einzelnen Bahnen zu wünschen, sowie vor allem der Einsatz eines Zweistrahlphotometers. Diese Forderungen werden mit dem Schoeffel SD - 3000, sowie einer mit Schrittmotoren arbeitenden volldigitalen Steuereinheit verwirklicht. Das Abtastungsschema wird beibehalten, die Bahnansteuerung erfolgt sehr präzise, das Zweistrahlgerät ist bezüglich der Genauigkeit dem Einstrahlverfahren überlegen. Bei schräg gelaufenen Bahnen (Randbahnen, Plattengradienten ..) ergeben sich bei beiden Systemen mehr oder weniger große Fehler, da der einzelne Fleck nicht mehr nachpositioniert wird. Durch Dreipunktauftrag kann dieser Fehler zwar sehr klein gehalten werden, sollte aber durch ein geeignetes System, das in der Lage ist, jeden Fleck einzeln optimal im Meßspalt zu positionieren, eliminiert werden.

Da für die Auswertung bereits ein Tischrechner verwendet wird, bietet sich an, diesen auch als Prozeßrechner für die aktive Fotometersteuerung zu benutzen. Dieses Verfahren liefert ein Maximum an Flexibilität. Bahnabstand und Komponentenzahl sind beliebig wählbar, es können alle Plattengrößen mit demselben Steuerprogramm abgetastet werden. Durch Nachpositionieren je-

des einzelnen Fleckes wird die Meßgenauigkeit, bei gleichzeitiger Verringerung des Zeitbedarfs, in ganz erheblichem Maße gesteigert. Die Umrüstung eines Fotometers auf den Rechnerbetrieb ist mit verhältnismäßig geringem Aufwand verbunden, so daß gerade diesem Verfahren in Zukunft ein Platz in Industrie und Forschung eingeräumt werden könnte, wie schon jetzt das rege Interesse zeigt.

Weiterhin wird eine Methode beschrieben, das zig-zag-Scan-System zunächst bezüglich der Auswertung Digitalrechnern zugänglich zu machen. Umrüstung auf Schrittmotorantrieb ist prinzipiell möglich, so daß sich auch hier eine vollständige Rechnersteuerung anbietet. Es wird ferner gezeigt, daß durch geeignete Glättungs- und Verstärkungsmaßnahmen die Nachweisempfindlichkeit erheblich gesteigert werden kann.

Die Auswertung der gewonnenen Daten kann sowohl nach Approximation der Hüllkurve über die Peakfläche, als auch über die Peakhöhe erfolgen. Außerdem ist auch im ultravioletten Spektralbereich eine Auswertung über die KURIELKA-MUNK-Funktion möglich.

Industrie und Forschung haben die Arbeit bisher mit großem Interesse verfolgt, um so mehr als sich in Zukunft durch den Einsatz von Mikroprozessoren die elektronische Datenverarbeitung einen neuen Aktionskreis erschließen könnte.

Literaturverzeichnis

- 1) G. HEROLD
Dissertation, Marburg 1975
- 2) S. EBEL, G. HEROLD und J. HOCKE
"Instrument und Forschung", 3 (1975)
der Fa. Colora Meßtechnik GmbH
- 3) H. KUSSMAUL
Dissertation, Marburg 1972
- 4) S. EBEL und J. HOCKE
Chromatographia, 8, 573 (1975)
- 5) S. EBEL und G. HEROLD
Chromatographia, 8, 37 (1975)
- 6) S. EBEL und G. HEROLD
Z. anal. Chem., 266, 281 (1975 -
270, 19 (1974))
- 7) VALVO-Datenblätter
Schrittmotoren, Ansteuerbauteile (1976)
- 8) HEWLETT-PACKARD
Interface-Unterlagen
- 9) H. JORK
J. Chromatogr. 82, 85 (1973)
- 10) U. HEZEL
Angew. Chemie 85, 334 (1973)
- 11) L. R. TREIBER, R. NORDBERG, S. LINDSTEDT
und R. STÖLLNBERGER
J. Chromatogr. 56, 271 (1971)
- 12) S. EBEL und G. HEROLD
Deutsche Lebensmittel-Rundschau 70, 133
(1974)
- 13) S. EBEL und G. HEROLD
Chromatogr. 8, 35 (1975)
- 14) R. KLAUS
J. Chromatogr. 40, 235 (1969)
- 15) A. BETHKE und R. W. FREI
J. Chromatogr. 21, 433 (1974)
- 16) M. KAAL
Dissertation, Marburg (in Vorbereitung)

- 17) BURR-BROWN
Catalogue of active filters (1972)
- 18) A. B. WILLIAMS
Electronic Design 21, Oct. 14,
76 - 79 (1971)
- 19) S. EBEL und J. HOCKE
Z. Anal. Chem. 277, 105 (1975)
- 20) S. EBEL und G. HEROLD
Z. Anal. Chem. 273, 7 (1975)
- 21) MAC MULLAN, E. A., J. E. HEVERAN
in: J. C. Tocustone: Quantitative thin layer
chromatography, New York: Wiley 1973
- 22) W. TAUSCH
Meßtechnik 80, 38 (1971)
- 23) P. KUBELKA
J. Opt. Soc. America 38, 448, 1067 (1948)
- 24) P. KUBELKA und F. MUNK
Z. Techn. Phys. 12, 593 (1931)
- 25) G. KORTÜM
Reflexionsspektroskopie, Grundlagen, Methodik,
Anwendungen. Berlin-Heidelberg-New York,
Springer-Verlag (1969)
- 26) S. EBEL und H. KUSSMAUL
Chromatographia 7, 197 (1974)
- 27) J. GOLDMAN und R. R. GOODALL
J. Chromatogr. 32, 24 (1968); 345 (1969)
- 28) SHIMADZU
Unterlagen zum Linearizer LIN 53
- 29) U. HEZEL, J. BLOME, H. HALPAAP, D. JAENCHEN,
R. E. KAISER, J. RIPHAHN
Einführung in die Hochleistungs-Dünnschicht-
Chromatographie. Bad Dürkheim: IFC-Eigenver-
lag (1976)
- 30) D. ROST
Dissertation, Marburg (in Vorbereitung)
- 31) G. KORTÜM, W. BRAUN, G. HERZOG
Angew. Chemie 75, 653 (1963)
- 32) S. EBEL und J. HOCKE
Unveröffentlichte Versuche

Lebenslauf

Name: Jürgen Hocke

Geburtstag: 18. 2. 1949 in Eschwege

Religion: evangelisch

Eltern: Vater: Werner Hocke, Realschullehrer
Mutter: Elfriede Hocke, geb. Hormann
verstorben 1963,
Vater wieder verheiratet (1965)
mit Hanna Hocke, geb. Lorbeer

Verheiratet: seit dem 20. 4. 1974 mit
Angelika Hocke, geb. Gurkau

Schulbesuch: 1. Ostern 1955 bis Ostern 1959
Struth-Schule (Volksschule)
in Eschwege
2. Ostern 1959 bis Juni 1967
Friedrich-Wilhelm-Schule, Esch-
wege
14. 6. 1967 Reifeprüfung

Berufliche
Ausbildung: 1. 7. 1967 bis 30. 6. 1969
Praktikant in der Schloß-Apotheke,
Eschwege
24. 6. 1969 Pharmazeutische Vor-
prüfung (1) vor dem Regierungs-
präsidenten in Kassel
Oktober 1969 bis heute immatrikuliert
an der Philipps-Universität in Mar-
burg
13. 10. 1972 Pharmazeutische Staats-
prüfung (2)

Seit dem 1. 11. 1972 als wissenschaftliche Hilfskraft, seit dem 1. 10. 1974 als wissenschaftlicher Angestellter am Institut für Pharmazeutische Chemie und Lebensmittelchemie tätig

Wintersemester 1972/1973 Fortgeschrittenen-Praktikum

Seit dem Sommersemester 1973 als Doktorand bei Prof. Dr. S. Ebel tätig.

Meine akademischen Lehrer waren die Damen und Herren Professoren: Böhme, Dehnicke, Dimroth, Ebel, Eger, Hartke, Hartmann, Kating, Krieglstein, List, Nultsch, Otto, Schiff, Schmitz, Seitz, Siess, Stuke, Unterhalt, Walcher, Willuhn, Wolter.

